

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ПРИВОЛЖСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МЕДЯНИК
ИГОРЬ АЛЕКСАНДРОВИЧ

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКЕ
ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА
(клинико-экспериментальное исследование)

14.01.18 – нейрохирургия

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
Фраерман Александр Петрович

Нижний Новгород

2016

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

АГ	-	Антигены
АД	-	Артериальное давление
АО	-	Антиоксиданты
АОА	-	Антиоксидантная активность
АОС	-	Антиоксидантные системы
АОП	-	Антиоксидантный потенциал
АФК	-	Активные формы кислорода
БКС	-	Бинарная каталитическая система
БКТ	-	Бинарная каталитическая терапия
ВП	-	Медиана времени без прогрессирования
ГВ	-	Герпес вирус
ГЭБ	-	Гематоэнцефалический барьер
ГЭПР	-	Гранулярный эндоплазматический ретикулум
ДК	-	Дендритные клетки
ДНК	-	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ДОГМ	-	Доброкачественные опухоли головного мозга
ЗОГМ	-	Злокачественные опухоли головного мозга
ИКС	-	Инфракрасная спектроскопия
КСИ	-	Курсы специфической иммунотерапии
КТ	-	Компьютерная томография
МОВ	-	Медиана общей выживаемости
МРТ	-	Магниторезонансная томография
МСМ	-	Молекулы средней массы
МХ	-	Митохондрии
НИ	-	Неспецифическая иммунотерапия
ОГМ	-	Опухоли головного мозга
ОСК	-	Опухолевые стволовые клетки
ОФР	-	Озонированный физиологический раствор
ПВ	-	Перекись водорода
ПМРС	-	Протонная магнитно-резонансная спектроскопия
ПРЭ	-	Перекисная резистентность эритроцитов

ПЭТ	-	Позитронно-эмиссионная томография
ПХТ	-	Полихимиотерапия
ПЦР	-	Полимеразная цепная реакция
РНК	-	Рибонуклеиновая кислота
СГ	-	Сегидрин
СИ	-	Специфическая иммунотерапия
СОД	-	Супероксид дисмутаза
СРО	-	Свободно-радикальное окисление
СРП	-	Свободно-радикальные процессы
СРС	-	Свободно-радикальные соединения
ТВ	-	Тепловизионная
ТЭМ	-	Трансмиссионная электронная микроскопия
ФДТ	-	Фотодинамическая терапия
Фс	-	Фотосенс
ХЛпл	-	Хемилюминесценция сыворотки
ЦМВ	-	Цитомегаловирус
ЦНС	-	Центральная нервная система
Эт	-	Этопозид
РО ₂	-	Парциальное напряжение кислорода
Тф	-	Терафтал
ХП	-	Холодовая проба
ХТ	-	Химиотерапия
ШК	-	Шкала Карновского
Cho	-	Холин
Cr	-	Креатин
Glx	-	Глутамин-глутамат
Ins	-	Мио-инозитол
Lac	-	Лактат
NAA	-	N-ацетиласпартат
PCV	-	Схема полихимиотерапии: винкристин, ломустин, натулан
ECOG	-	Eastern Cooperative Oncology Group
RANO	-	Revised Assessment in Neuro-Oncology

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ДИССЕРТАЦИИ.	2
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	21
1.1 Диагностика злокачественных опухолей головного мозга	21
1.2 Лечение злокачественных опухолей головного мозга	33
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАБЛЮДЕНИЙ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ	57
2.1 Характеристика клинических наблюдений	57
2.2 Экспериментальные исследования	65
2.2.1 Исследование возможности повышения проницаемости ГЭБ	65
2.2.2 Модификация химиотерапии в условиях <i>in vitro</i>	66
2.2.3 Полихимиосенсибилизация в условиях <i>in vivo</i>	69
2.3 Методы исследований	71
2.3.1 Нейровизуализационные методы обследований	72
2.3.2 Применяемое оборудование при удалении опухолей	73
2.3.3 Методика проведения специфической иммунотерапии	77
2.3.4 Методика проведения ИКС исследован.	78
2.3.5 Биохимические и гистологически исследования	81
2.4 Статистическая обработка результатов исследований.	83
ГЛАВА 3. НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА	84
3.1 Инфракрасная спектороскопия в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей головного мозга	85
3.2 Инфракрасная спектороскопия в прогнозировании морфологического характера опухолей головного мозга в дооперационном периоде	94

3.3 Инфракрасная спектроскопия в ранней диагностике морфологического характера опухолей головного мозга продолженного роста и оценке эффективности лечения злокачественных опухолей головного мозга	112
3.4 Прогностическое значение инфракрасной спектроскопии в диагностике продолженного роста глиобластом в раннем послеоперационном периоде	139
ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХИМИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА	164
4.1 Повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера	164
4.2 Полихимиосенсибилизация в лечении злокачественных опухолей головного мозга	172
4.2.1 Реакция опухолевой ткани на воздействие озонированного физиологического раствора и комплексов переходных металлов при комбинированной химиотерапии. Исследования <i>in vitro</i>	174
4.2.2 Временное повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера и полихимиосенсибилизация в лечении перевиваемых опухолей головного мозга. Исследования <i>in viv</i>	181
ГЛАВА 5. КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА	187
5.1 Принципы хирургического лечения злокачественных опухолей головного мозг	187
5.1.1 Роль тепловидения при удалении внутримозговых опухолей	203
5.1.2 Удаление множественных опухолей головного мозга	212
5.1.3 Профилактика образования оболочечно-мозговых рубцов	221
5.2. Инструментальный контроль фотодинамической терапии	237
5.2.1. Тепловизионный контроль фотодинамической терапии	237

5.2.2. Динамика свободно-радикальных процессов и эндотоксемии при фотодинамической терапии опухолей головного мозга	247
5.3. Фотодинамическая терапия и специфическая иммунотерапия на основе дендритных клеток в лечении злокачественных опухолей головного мозга	252
5.4. Адьювантная терапия злокачественных опухолей головного мозга. . .	262
5.5. Лечебно-диагностическая тактика в послеоперационном периоде . . .	270
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	281
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	293
ВЫВОДЫ	303
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	305
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	307
ПРИЛОЖЕНИЕ	347

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

За последние десятилетия применение высокотехнологичных хирургических методик, лучевой терапии и химиотерапии при лечении глиобластом позволило увеличить продолжительность жизни больных, однако, пределы выживания ограничиваются 12,2-18,2 мес. (Кобяков Г.Л., 2011, 2014; Олюшин В.Е. и соавт., 2012, 2014; Улитин А.Ю. и соавт., 2014; Мацко Д.Е., 2015; Perry J. et al., 2012; Minniti G. et al., 2014; Almeida J.P. et al., 2015). Это обосновывает поиск новых подходов к лечению злокачественных опухолей головного мозга.

Лечение любой патологии напрямую зависит от эффективности диагностики. Актуальность ранней диагностики опухоли головного мозга (ОГМ) определяется несколькими причинами. Этим заболеванием страдает преимущественно трудоспособная часть населения. Первичные опухоли ЦНС находятся на третьем месте по причинам смертности в возрасте от 15 до 35 лет и на втором месте – у детей до 15 лет (Труфанов Г.Е. и соавт., 2005). Опухоли головного мозга нередко распознаются на поздних стадиях, так как большинство существующих методов инструментальной диагностики в основном применяются после появления симптомов заболевания, когда опухоли достигают клинически значимых размеров. Выполнение магнитно-резонансной томографии (МРТ) или компьютерной томографии (КТ) обследования всем лицам с повышенным риском образования опухолей головного мозга, например, возраст пациента 45-74 лет для глиобластом (Ostrom Q.T. et al., 2015), представляется нереальным. Для этого необходим простой эффективный метод диагностики ОГМ. Таким образом, несмотря на постоянное совершенствование и существенные достижения в развитии современных методов обследования нейроонкологических больных, широкое внедрение в практику разных методов диагностики, проблема ранней диагностики ОГМ полностью не решена и остается актуальной.

Существует мнение о необходимости рассмотрения половых различий при проведении клинических и фундаментальных научных исследований ОГМ (Sunet N. et al., 2014, 2015). Проводятся экспериментальные исследования возможности использования антиэстрогена в лечении глиом (He W. et al., 2015). Вместе с тем, в литературе отсутствуют работы, в которых при диагностике ЗОГМ учитывались бы половые различия.

На сегодня основным методом в комплексном лечении больных злокачественной опухолью головного мозга (ЗОГМ). Даже при сложной их локализации признается хирургический метод (Черкаев В.А. и соавт., 2013; Пицхелаури Д.И. и соавт., 2015; Chaichana L. et al., 2013; Li Y.M. et al., 2015). Хирургия ЗОГМ предполагает выполнение при необходимости повторных оперативных вмешательств. Однако возможности оперативного лечения при возникновении продолженного роста опухолей нередко ограничены. Это связано с инвазивным характером роста, вовлечением в процесс функционально значимых и жизненно важных структур мозга, образованием оболочечно-мозговых рубцов, несовершенством интраоперационных методов диагностики. Несмотря на постоянное совершенствование методов интраоперационной диагностики до конца нерешенной является проблема выявления и удаления множественных опухолей головного мозга и интраоперационное определение границ опухолей (Горайнов С.Е. и соавт., 2014; Shamir R.R. et al., 2012; Garlapati R. et al., 2014).

Во многих исследованиях была показана эффективность метода фотодинамической терапии (ФДТ), повышающего выживаемость больных ЗОГМ, но этот метод имеет свои ограничения и осложнения (Kostron H. et al., 2006; Varma A.K., Muller P.J. 2008), поэтому совершенствование данной методики сохраняет свою актуальность (Muragaki Y. et al., 2013; Han X. et al., 2014). Многим больным ЗОГМ оперативные вмешательства выполняются многократно (Chaichana L. et al., 2013; Ortega A. et al., 2016). Это повышает риск образования оболочечно-мозговых рубцов, что усложняет выполнение повторных оперативных вмешательств и повышает риск травматизации окружающих тканей.

Таким образом, разработка новых диагностических методик, совершенствование методов интраоперационной диагностики опухолей и хирургических методик удаления опухолей, способных повысить радикальность операции, снизить риск интраоперационного повреждения мозговых структур, облегчить выполнение повторных оперативных вмешательств сохраняют свою актуальность.

В отличие от общей онкологии, когда на протяжении нескольких месяцев возможен подбор и замена при отсутствии эффекта противоопухолевых препаратов, подбор адекватной химиотерапии в нейроонкологии резко ограничен временем, что обусловлено небольшим объемом черепной коробки и близостью жизнеобеспечивающих структур.

Результаты разных клинических испытаний новых препаратов или комбинаций, уже существующих, не оказывают значимого влияния на конечную цель терапии – существенное увеличение продолжительности жизни пациентов. Важными причинами неутешительных результатов применения химиотерапии в нейроонкологии является устойчивость ЗОГМ к лечению и наличие гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) (Adams S. et al., 2012; Lau D. et al., 2014). Поэтому поиск новых методик и веществ, способных повысить проницаемость (ГЭБ) и чувствительность опухолей к химиотерапии путем их химио-сенсibilизации, сохраняют свою актуальность и на сегодняшний день.

Единственно верным на сегодня подходом к лечению ЗОГМ является комплексный, включающий оперативное лечение, лучевую и лекарственную терапию в послеоперационном периоде, который определен стандартами, опциями и рекомендациями в лечении первичных опухолей ЦНС и утвержден приказом министерства здравоохранения в 2013г. Но до сих пор проведение адъювантных методов терапии основано на эмпирическом подходе. Так, назначение лучевой терапии в послеоперационном периоде рекомендуется проводить через 2-6 недель после операции, химиотерапию – 1 раз в 2-8 недели в количестве 6-10 раз и в зависимости от вида химиотерапии (Константинова М.М., 2002; Ziu M., et al., 2015). Не учитывается наличие прогностических факторов

развития опухолевого процесса. В настоящее время определить прогноз общей выживаемости пациентов с глиомами возможно с помощью адаптированной к нейроонкологии классификации RTOG RPA. К факторам риска, определяющим выживаемость, относятся возраст пациентов, тип опухоли, состояние по шкале Карновского (Curran W.J. et al., 1993). Но для адекватной оценки динамики опухолевого процесса, и тем более оценки эффективности проводимой терапии, важным является возможность определения с помощью прогностических факторов ответа на терапию, или оценки эффективности лечения в режиме реального времени, на любом этапе противоопухолевого лечения. Наличие таких прогностических факторов позволит проводить более раннее назначение лечения и его быстрое изменение при выявлении признаков резистентности глиом к лечению и может существенно улучшить результаты путем выбора правильной тактики терапии больных ЗОГМ. Выполняемые 1 раз в 2-6 месяцев МРТ, в зависимости от гистологического характера опухоли, не позволяют своевременно оценить динамику процесса и нередко уже только констатируют факт увеличения объема опухоли на фоне проводимой терапии.

Выбор тактики лечения больных ЗОГМ в послеоперационном периоде, несомненно, осложняется отсутствием эффективной ранней диагностики продолженного роста опухоли, а также отсутствием надежных прогностических критериев показаний к проведению химиотерапии и оценки эффективности лечения. Критерии RANO не позволяют оценить эффективность проводимого в послеоперационном периоде лечения. Поэтому актуальным остается поиск новых подходов к лечению, основанных, в том числе, на индивидуальной оценке прогноза течения заболевания и оценке эффективности проводимой терапии.

Степень разработанности темы исследований

Важную дополнительную информацию для прогнозирования и оценки эффективности химиотерапии дает оценка метаболической активности опухоли с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), специальных режимов

MPT (Тоноян А.С. и соавт., 2015; Galldiks N. et al., 2013; Yao J. et al., 2015), но применение этих методик в реальном режиме времени вряд ли возможно.

С целью выявления биомаркеров опухолей головного мозга и быстрой оценки эффективности химиотерапии проводятся исследования разных микроРНК в сыворотке крови (Tumilson C.A. et al., 2014; Best M.G. et al., 2015; Kros J.M. et al., 2015; Yue X. et al., 2016). Авторами отмечается четкая корреляция между уровнем микроРНК и степенью анаплазии глиом, изменением их содержания в послеоперационном периоде или в результате химиотерапии. Выявлена высокая чувствительность и специфичность метода при дифференциальной диагностике наличия злокачественных и доброкачественных опухолей у больных и у контрольной группы без опухолей (Yang C. et al., 2012; Tumilson C.A. et al., 2014; Zhang R. et al., 2016).

Вместе с тем, следует отметить, что опухоли Grade IV и III – быстрорастущие с постоянно меняющимся генотипом, что приводит к множественным мутациям опухолевых клеток и, соответственно, изменениям структуры белков. Так, при исследованиях 33 образцов у 7 пациентов с первичной глиобластомой было выявлено 53 мутации в 27 генах; выявлена мутация таких уже известных генов как APC, IDH2, EGFR, TP53, PTEN, PIK3CA. При этом одинаковые гены выявлялись только в 1-2 образцов у одного пациента (Tang C. et al., 2015; Messaoudi K. et al., 2015).

Следовательно, прогностическая ценность единичных показателей довольно низкая. Перспективным в плане выявления маркеров глиом является ИКС, которая с высокой чувствительностью и специфичностью позволяет выявлять в том числе в сыворотке крови не только разные РНК, белки, но и жиры, и углеводы (Meade A.D. et al., 2007; Baker M.J. et al., 2008; Movasaghi Z. et al., 2008; Bellisola G. et al., 2012; Hands J.R. et al., 2013, 2014). ИК спектры многих веществ, в том числе липидов, белков известны (Балаховский И.С., 1995; Кейтс М., 1975). Их идентификация проводится благодаря наличию так называемых характеристических групп или групп соединений, поглощающих энергию в

строго определённом интервале частот. К ним, например, относятся колебания групп N-H, NH₂, NO₂, C-H, CH₂, CH₃, O-H, C=C, C-O, P-O, P-O-P и др. [Кейтс М., 1975].

На фоне опухолевого процесса происходит изменение структуры многих соединений. В белках, например, происходят разрывы внутримолекулярных водородных связей C=O...H-N с последующей перестройкой всей системы водородных связей в структуре белков. Появление или даже изменение определенных функциональных групп в молекуле обуславливает появление новых характеристических полос поглощения. В результате инфракрасные (ИК) спектры многих органических молекул меняются (Толсторожев Г.Б. и соавт., 2009; Noreen R. et al., 2011; Stelling A.L. et al., 2013). Их можно идентифицировать с помощью каталога стандартных спектров.

Известны единичные исследования применения ИКС в качестве биомаркеров глиом. При этом авторам удалось дифференцировать глиомы низкой и высокой степени анаплазии от нормы с чувствительностью и специфичностью в 100.00% и 95.83% соответственно (Hands J.R. et al., 2013; 2014; 2016).

Таким образом, поиск новых методов диагностики ОГМ, в том числе биомаркеров, способных на раннем этапе определить продолженный рост ЗОГМ, и оценить эффективность противоопухолевого лечения является актуальным и перспективным направлением научных исследований.

В хирургии ЗОГМ активно используются и совершенствуются навигационные системы, однако, они интраоперационно отражают статические результаты дооперационного обследования больных и не определяют динамически меняющиеся пространственные взаимоотношения «опухоль – мозг – костные структуры» (Danilchenko A. et al., 2011; Shamir R.R. et al., 2012). Применяются ультразвуковые навигационные системы, в том числе с использованием контрастирования при опухолях Grade IV и III, которые улучшают визуализацию опухолей и повышают радикальность их удаления (Arlt F. et al., 2016), однако, они имеют ограничения при опухолях, плохо накапливающих контраст при диагностике подкорковых структур, функциональных зон мозга (Haberland N. et al., 2000).

Учитывая устойчивость ЗОГМ к лечению, продолжается поиск модификаторов химиотерапии, способных повысить чувствительность опухоли к химиопрепаратам (Zhao Z. et al., 2015; Zhou D. et al., 2015; Poschmann G. et al., 2015). Однако в нейроонкологии не существует специфических препаратов или методик, способных эффективно повысить чувствительность опухолевых клеток ЦНС к химиотерапии.

Развитие опухоли это постоянно меняющийся динамичный процесс, зависящий от разных факторов, включающих активную пролиферацию, отсутствие активности опухоли, ее регресс или прогрессирование на фоне лечения. Многие вопросы злокачественной трансформации и дифференцировки ОГМ и их роль при лечении на сегодня остаются неизученными. Поэтому изучение патогенеза ЗОГМ продолжается и сохраняет свою важность и актуальность (Liebelt B.D. et al., 2016; Rao A. et al., 2016).

Таким образом, попытки решить проблему лечения ЗОГМ неразрывно связаны с решением тех факторов, которые являются определяющими в успехе лечебного воздействия на опухоль. Прежде всего, к ним относится ранняя диагностика первичных ЗОГМ и до проявлений изменений на МРТ диагностика их продолженного роста, а также совершенствование хирургических и медикаментозных методов лечения.

Цель исследования

Разработать систему дифференцированного лечения злокачественных опухолей головного мозга на основе новых подходов к диагностике и комплексной терапии

Задачи исследования

1. Разработать метод первичной диагностики опухолей головного мозга и раннего распознавания их продолженного роста, основанный на инфракрасной спектроскопии.

2. Усовершенствовать методику удаления глубинных и множественных новообразований головного мозга.
3. Разработать метод предупреждения рубцово-спаечного процесса после удаления опухолей головного мозга.
4. Усовершенствовать методику интраоперационной фотодинамической терапии ЗОГМ.
5. Разработать дифференцированные подходы к терапии больных при продолженном росте злокачественных опухолей головного мозга.
6. Установить значение инфракрасной спектроскопии в определении показаний к раннему проведению противоопухолевой терапии в послеоперационном периоде.
7. Разработать метод повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера с целью оптимизации интракаротидной химиотерапии в эксперименте.
8. В эксперименте разработать методику комбинированной интракаротидной химиотерапии злокачественных опухолей головного мозга.

Научная новизна исследования

Выработана новая концепция динамического наблюдения и лечения пациентов с глиомами головного мозга. Суть концепции заключается в том, что в дополнение к существующим методам диагностики и лечебной тактики, определёнными стандартами, опциями и рекомендациями в лечении первичных опухолей ЦНС (2012), используется инфракрасная спектроскопия сыворотки крови, являющаяся эффективным методом ранней диагностики продолженного роста злокачественных опухолей головного мозга, а также позволяющая корректировать противоопухолевую терапию и тем самым оптимизировать результаты лечения больных ЗОГМ.

Впервые предложен метод диагностики первичных злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга, основанный на инфракрасной спектроскопии сыворотки крови (патент № 2350953 от 27.03.2009 г.).

Установлено, что применение инфракрасной спектроскопии сыворотки крови позволяет прогнозировать на дооперационном этапе степень анаплазии и морфологический характер первичных злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга (патент №2519151 от 11.04.2014 г.).

Впервые определено прогностическое значение изменений показателей ИК спектроскопии сыворотки крови больных ЗОГМ в ранней диагностике продолженного роста опухолей (патент № 2463598 от 10.10.2012 г.).

Предложен усовершенствованный метод хирургического удаления множественных опухолей головного мозга, основанный на использовании навигационной системы в режиме биопсии (получено положительное решение на заявку № 2015138300 от 08.09.2015).

Установлена эффективность интраоперационного тепловизионного контроля фотодинамической терапии ЗОГМ в снижении перитуморального отека (рационализаторское предложение № 2631 от 19 ноября 2013 г.).

Впервые показано, что дополнительная установка субдуральной мембраны из реперена после удаления ЗОГМ предупреждает образование оболочечно-мозговых рубцов (патент № 2543855 от 03.02.2103 г.).

Впервые обнаружено явление дифференцировки глиобластом в раннем послеоперационном периоде (открытие № 470 от 25 сентября 2014 г.).

Доказано, что интракаротидное введение озонированного физиологического раствора повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера в эксперименте на животных (патент № 2391107 от 12.06.2010 г.).

Впервые разработан метод полихимиосенсибилизации при лечении злокачественных опухолей головного мозга в эксперименте на животных, основанный на комбинированном внутриартериальном введении раствора озона и металлокомплексов (патент № 2451298 от 20.05.2011 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленные патофизиологические особенности ЗОГМ открывают новые перспективы в изучении, прогнозировании и управлении патогенетическими

механизмами опухолевого процесса. Обосновывается значимость изучения микроокружения злокачественных опухолей головного мозга в плане разработки направленной стратегии терапии.

Результаты выполненной работы позволяют:

- определить наличие у больного опухоли головного мозга, прогнозировать ее морфологическую характеристику на основании ИКС сыворотки крови;
- до клинических проявлений и изменений, по данным МРТ или КТ, диагностировать наличие продолженного роста опухоли и обоснованно ставить показания к реоперации, назначению или изменению противоопухолевой терапии;
- оценить эффективность проводимой противоопухолевой терапии;
- облегчить поиск глубинных мелких новообразований и определять границы опухоль-мозг с помощью использования «путевых меток»;
- уменьшить травматичность повторного оперативного вмешательства при продолженном росте опухолей головного мозга за счет предупреждения образования рубцово-спаечного процесса путем имплантации субдуральной мембраны;
- снизить послеоперационный отек перитуморальной зоны при ФДТ путем использования интраоперационного тепловизионного контроля;
- повысить МОВ больных с глиомами головного мозга при учете данных ИКС в лечении больных, и при проведении специфической иммунотерапии.

Методология и методы исследования

Использованная методология основана на теоретических и практических принципах диагностики и лечения злокачественных опухолей головного мозга.

Объект исследования – больные ЗОГМ и экспериментальные опухоли 101.8 в условиях *invitro* и крысы с перевитыми опухолями.

Предмет исследования – плазма крови больных ЗОГМ, нейровизуализационные данные, определяющие тактику противоопухолевого лечения.

Работа выполнена в соответствии с принципами доказательной медицины с использованием современных клинко-диагностических методов исследования и обработки данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Новая концепция динамического наблюдения и лечения пациентов с глиомами головного мозга подразумевает, наряду с использованием стандартных методов диагностики и лечебной тактики, дополнительное использование инфракрасной спектроскопии сыворотки крови, которая применяется при дооперационной диагностике, в раннем послеоперационном периоде и на этапах проведения химиолучевой терапии.

2. Инфракрасная спектроскопия сыворотки крови обеспечивает:

- дифференциальную диагностику первичных злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга;
- прогнозирование продолженного роста глиобластом в раннем послеоперационном периоде, что требует индивидуального подхода к тактике лечения;
- на раннем этапе диагностику продолженного роста и оценку эффективности лечения ЗОГМ и обосновывает необходимость смены противоопухолевой терапии при необходимости.

3. Использование безрамной стереотаксической навигации, дополненной «путевыми метками», обеспечивает обнаружение и менее травматичное удаление глубинных опухолей, независимо от интраоперационного смещения мозговых структур и самих опухолей. Данный метод должен быть использован при множественных глубинных опухолях, в том числе для определения границы «опухоль – мозг» при удалении новообразований с низкой анаплазией.

4. Тепловизионный контроль степени нагревания мозга при ФДТ позволяет снизить риск возникновения послеоперационного перитуморального отека.

5. Установка субдуральной мембраны при первичных операциях является безопасным методом и обеспечивает полное отсутствие оболочечно-мозговых рубцов в зоне операции, что облегчает выполнение повторных оперативных вмешательств. Субдуральная мембрана должна устанавливаться во всех случаях выполнения первичных оперативных вмешательств.

6. Использование озонированного физиологического раствора в сочетании с металлокомплексами терафтал, фотосенс при интракаротидной химиотерапии

экспериментальных опухолей 101.8 обеспечивает повышение проницаемости ГЭБ и усиление эффекта полихимиосенсибилизации при снижении необходимой дозы химиопрепарата, что существенно повышает выживаемость экспериментальных животных.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов исследований определяется выборкой, критериями включения, количеством наблюдений, высокоточными методами обследования пострадавших, а также адекватными статистическими методами анализа полученных данных.

Основные результаты и положения работы доложены на: III, IV, V, VI и VII Съездах нейрохирургов России (Санкт-Петербург, 2002, Москва, 2006, Уфа, 2009, Новосибирск, 2012, Казань, 2015); Всероссийских научно-практических конференциях «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016); межрегиональных нейрохирургических конференциях Нижегородского нейрохирургического центра (1999, 2000, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015), Сибирском международном нейрохирургическом форуме (Новосибирск, 2012 г.), 26th National Conference Pakistan Society of Neurosurgeons (Karachi-Pakistan, 2013), заседании ассоциации нейрохирургов Санкт-Петербурга им. И.С. Бабчина (февраль 2016 г.).

Первичная экспертиза диссертации проведена на заседании Ученого Совета ФГБУ Приволжского федерального медицинского исследовательского центра Министерства здравоохранения России (протокол № 8 от 21.06. 2016 г.).

Личное участие автора в получении результатов

Тема и содержание работы разработаны на основе многолетних исследований автора. Автором сформулированы гипотеза, цель и задачи работы, разработан дизайн исследования, создана электронная база, выполнена статистическая обработка полученных результатов. Лично проведено клиническое обследование и лечение 80% больных ЗОГМ, самостоятельно

выполнены все экспериментальные исследования. Диссертантом разработаны и внедрены в практику новые методы диагностики, совершенствованы хирургические методы лечения, предложены лечебно - диагностические алгоритмы ведения больных ЗОГМ. Соискателем разработана концепция ведения больных ЗОГМ.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 76 печатных работ, 22 статьи в журналах. Из них 17 в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикаций основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук, 2 статьи в зарубежных журналах. Написано по 1 разделу в двух монографиях. 1 открытие, 7 изобретений, 1 рационализаторское предложение.

Получен диплом на открытие: явление дифференцировки злокачественных опухолей головного мозга (диплом на открытие № 470 от 25.09.2014 г.)

Получены патенты на изобретения:

Способ диагностики новообразований головного мозга (патент №2350953 от 27.03.2009).

Способ лечения повреждений головного мозга (патент № 2543855 от 10.03.2015).

Способ лечения злокачественных опухолей головного мозга (патент № 2418587 от 20.05.2011).

Способ определения рецидива злокачественного новообразования головного мозга в послеоперационном периоде (патент № 2463598 от 10.10.2012).

Способ дифференциальной диагностики новообразований головного мозга (патент № 2519151 от 10.06.2014).

Способ интраоперационной навигации при внутримозговых новообразованиях (получено положительное решение на заявку № 2015138300 от 08.09.2015).

Способ повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера (патент № 2391107 от 10.06.2010).

Способ интраоперационного контроля температуры ложа опухоли во время фотодинамической терапии (рационализаторское предложение № 2631 от 19.11.2013 г.).

Внедрение результатов работы в практику

Результаты работы внедрены и используются в учебной и клинической деятельности отделения нейрохирургии ФГБУ ПФМИЦ Минздрава России, отделения нейрохирургии ФБУЗ ПОМЦ ФМБА, отделения нейрохирургии областной клинической больницы имени Н.А. Семашко, отделения нейрохирургии городской клинической больницы №39, ГБУЗ НО «Нижегородского областного клинического онкологического диспансера» г. Нижний Новгород.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 342 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения, списка использованной литературы, включающего 129 отечественных, 222 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 60 таблицами и 166 рисунками.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Диагностика злокачественных опухолей головного мозга

Современная нейрохирургия располагает такими диагностическими возможностями, которые несколько десятилетий назад даже представить было практически невозможно. КТ, МРТ, и ее разновидности: – МР спектроскопия, функциональная МРТ, диффузная, перфузионная, диффузно-тензорная МРТ, ПЭТ, однофотонная эмиссионная томография, гибридные КТ-МРТ, КТ-ПЭТ томографы, ангиография, это современное высокотехнологичное диагностическое оборудование, которое обеспечивает данные о расположении опухоли, ее распространении, связи с окружающими функциональными и жизненно важными структурами, о предположительном характере процесса. Вместе с тем, большое количество разных методов диагностики свидетельствует об их несовершенстве. Каждый из существующих методов имеет свои показания, ограничения к применению, имеет разную чувствительность (Гайдар Б.В., 2006; Труфанов Г.Е., 2005, 2008; Корниенко В.Н., Пронин И.Н., 2006; Тоноян А.С. и соавт., 2015). На сегодня роль и информативность каждого отдельного метода диагностики четко определена и известна. До сих пор единого универсального, надежного, максимально информативного метода диагностики, позволяющего выявить первичную ОГМ, ее продолженный рост и способного ответить на все вопросы нейрохирурга, не существует. Хорошо известно, что ОГМ, и особенно злокачественные, в силу особенностей роста и расположения, характеризуются достаточно ранними клиническими проявлениями. Тем не менее, диагноз ОГМ нередко ставится поздно. Так, период между первыми проявлениями заболевания и окончательной постановкой диагноза при астроцитарных и олигодендроглиальных опухолях составляет 2 года, при анапластических

астроцитарных опухолях – до 24 мес., при глиобластомах – менее 6 мес. В нейрохирургические клиники больные чаще всего поступают с опухолями больших размеров, нередко в состоянии суб- или декомпенсации (Улитин А.Ю., 2005).

Современные методы нейровизуализации достаточно точно верифицируют диагноз ОГМ, но методик, позволяющих выявить нарастание активности опухоли и ее метаболизма и, таким образом, диагностировать на раннем этапе рост опухоли не много. К ним относится ПЭТ, основанная на определении различий в скорости метаболических процессов в опухоли, неизменной мозговой ткани и неспецифически измененным мозговым веществом (Скворцова Т.Ю., 2001; Подопригора А.Е., 2002). Данная методика основана на исследовании накопившегося в опухолевых клетках радиофармпрепарата (РФП). При исследовании ^{11}C -метионина в ткани опухоли на примере исследования 101 пациента этот метод позволил выявить чувствительность данной методики, равную 95,8%, а специфичность – 96,5%. Недостатками являются высокая стоимость исследования с использованием РФП, длительность исследования, накопление РФП в неопухолевых тканях: ^{11}C -метионина в очагах воспаления мозга в послеоперационном периоде; ^{18}F – фтордезоксиглюкозы – в лучевом некрозе, что не позволяет дифференцировать его от продолженного роста низкоквалифицированных глиом (Труфанов Г.Е., 2005).

Для ранней диагностики опухолей головного мозга применяют протонную магнитно-резонансную спектроскопию (ПМРС). Она основана на определении содержания некоторых метаболитов в тканях. Наиболее часто исследуют холин, лактат, креатин, фосфокреатинин, мио-инозин, глутамат, глутамин, липиды, N-ацетиласпартат, и их соотношения. Данный метод позволяет предположить с высокой долей вероятности степень злокачественности процесса (Труфанов Г.Е., 2008). Этот метод на раннем этапе, до визуального определения опухоли с помощью МРТ, позволяет выявить начало развития опухоли.

Однако при этом методе исследуется только один участок ткани мозга небольшого объема (воксель). При многовоксельной спектроскопии,

исследование осуществляют только в одной плоскости на относительно небольшом участке мозга. Вместе с тем, известно, что опухоль неоднородна по своему строению и активности опухолевых клеток. И получить информацию об активности всей опухоли с применением данного способа не представляется возможным. Кроме того, расположение рядом с зоной исследования костных структур, ликворных пространств, крупных сосудов и очагов геморрагии приводит к появлению артефактов, искажающих результаты исследований (Подопригора А.Е., 2002; Труфанов Г.Е., 2008). Похожие изменения метаболитов выявляются при абсцессах, других ЗОГМ. При пилоцитарных астроцитомах ПМРС не позволяет четко дифференцировать злокачественные и доброкачественные ОГМ (Корниенко В.Н., Пронин И.Н. 2006).

Серьезной проблемой для нейроонкологов на сегодня остается ранняя диагностика продолженного роста ЗОГМ. При продолженном росте опухоли нередко достигают больших размеров при относительно незначительных клинических проявлениях и удовлетворительном состоянии больных. Это связано с тем, что при первично растущей опухоли уже были сформированы определенные внутричерепные механизмы компенсации внутричерепного давления, при операции нередко выполняется внутренняя декомпрессия, за счет удаления нефункциональных участков мозга, поэтому при продолженном росте характерные для ОГМ клинические симптомы чаще всего проявляются поздно.

Современные методы, казалось бы, должны избавить нас от ошибок. К сожалению, это далеко не так. Несмотря на использование МРТ и КТ, даже при применении контрастных веществ выявить раннюю активацию опухолевого процесса, дифференцировать продолженный рост опухоли от лучевого некроза, воспалительных, рубцовых послеоперационных изменений удастся не всегда. Итоговое заключение по-прежнему строится по результатам совокупности методов, что свидетельствует о неполноценности использования каждого метода в отдельности. Так, алгоритм обследования больных в послеоперационном периоде, который направлен на раннее выявление продолженного роста опухоли, включает применение МРТ или КТ с контрастным усилением через 4-5 нед. после

лучевой терапии, а затем 1 раз в 3-6 мес., клинический анализ крови, осмотр онколога, невролога и окулиста 1 раз в месяц (Корытова Л.И., и др. 2003).

Положительный эффект при комбинированном лечении глиальных и метастатических опухолей зависит от строгого соблюдения алгоритма диагностических, лечебных мероприятий и активного диспансерного наблюдения за больными. Для этого контрольные КТ или МРТ проводятся через 4-6 нед. после лучевой терапии, а затем 1 раз в 3-6 мес. Клинический анализ крови, осмотр онколога, невролога и окулиста один раз в 1,5-3 мес. При терапии 321 больного с глиальными ОГМ и метастазах это позволило увеличить в 14% случаях трехлетнюю выживаемость (Фадеев Б.П., 2005). На соблюдении определенных диагностических алгоритмов и протоколов терапии основаны разработанные в 2012 г ассоциацией нейрохирургов России стандарты, опции и рекомендации в лечении первичных опухолей ЦНС.

Тем не менее, изучение секционных наблюдений показало, что в Санкт-Петербурге ежегодно умирает 250 человек от не диагностированных при жизни ОГМ, а фактически – от неверно установленного диагноза и неадекватного лечения (Никифоров Б.М., Мацко Д.Е., 2003).

Разработан метод ранней диагностики рецидивирования опухоли головного мозга – стабилография (Балязин И.В., 2008), основанный на компьютерной оценке координаторных нарушений больного и применяемый в динамике. Однако клиническая реализация данного метода требует наличия дополнительного сложного оборудования. Появление в послеоперационном периоде новых неврологических нарушений, не связанных с основным заболеванием, препятствует адекватной оценке показателей.

Большинство существующих методов диагностики не позволяет верифицировать продолженный рост опухоли головного мозга на раннем этапе, когда происходит активация оставшихся после хирургического удаления единичных опухолевых клеток или их небольших групп в перифокальной зоне. Одной из важных причин этого является следующее обстоятельство. Применение при МРТ или КТ обследовании контрастных веществ, которые накапливаются в сосудах

опухоли, на раннем этапе неэффективно, поскольку в начале своего развития опухолевые клетки используют сосудистую сеть мозга и только при нарастании объема опухоли до 1-2 мм в диаметре, что соответствует больше 10^6 клеток, начинает формироваться собственная сосудистая сеть опухоли (Li V.W. et al. 1994; Folkman J., 1971). Поэтому для диагностики, например, множественных метастазов с помощью МРТ используют удвоенные и даже тройные дозы контрастных препаратов (Корниенко В.Н., 2006). Но вероятность диагностики онкологических заболеваний в ранней стадии мала.

Ошибочное толкование данных анамнеза, клинического обследования больного, данных различных методов обследования до сих пор не исключается, поскольку с учетом всего комплекса данных врач выставляет диагноз на основе своих субъективных выводов (Улитин А.Ю., 2005).

В последние года активно ведется поиск каких-либо биомаркеров наличия ОГМ в крови или ликворе, основанных на иммунологических или биохимических методиках. Так, исследуется уровень цитокинов, в частности интерлейкинов – 2, 4, 5, 6, 10, 13 и т.д. метилирование промотора гена MGMT (O6 метилгуанин-ДНК – метилтрансфераза), разных микроРНК в сыворотке и ликворе при опухолях головного мозга (Rees J.H., 2011; Mirbahai L. et al., 2012; Wei X. et al., 2014; Schwartzbaum J. et al., 2015; Wang Z. et al., 2015; Shi R. et al., 2015; Sturrock M. et al., 2015; Shalaby T. et al., 2015; Yue X. et al., 2015; 2016). Определенный интерес представляет изучение содержания в сыворотке крови ферментов, нейроспецифических белков: основного белка миелина, кислого глиального фибриллярного белка, нейроспецифической энлазы, а также эритроцитарных мембранных белков, гликопротеинов, профиля белков крови и т.д. (Белко Н. С. и соавт., 2014; Jung C. S., 2007; Iwamoto F.M., 2014; Popescu I.D. et al., 2014; Perez-Janices N. et al., 2015; Tichy J. et al., 2015; Nieder C. et al., 2015; Chen Y. et al., 2015; Yue X. et al., 2015; 2016; Li B.T. et al., 2016). Авторами изучалась также возможность оценки прогноза течения и эффективности проводимой терапии. Исследовался метаболический профиль глиом и сыворотки крови с помощью хроматомасспектроскопии с целью выявления скрытых биомаркеров глиом

(Mörén L. et al., 2015). Во многих исследованиях показана высокая специфичность исследуемых веществ в диагностике ОГМ. Авторы оценивают применяемые методики как высоко эффективные и имеющие перспективу дальнейшего развития. Однако получение ликвора для анализа предполагает госпитализацию больного в стационар, сохраняется риск церебральной дислокации при опухолях.

При всей заманчивости идеи ранней биохимической или иммунодиагностики опухолей головного мозга существует ряд серьезных контраргументов, к которым относится генетическое разнообразие опухолей, возможность перекрестного реагирования. Известно, что глиальные новообразования имеют антигенный состав, довольно схожий с нормальной мозговой тканью, а противомозговые антитела циркулируют в крови примерно 15% здоровых лиц (Кислицин Ю.В., 2002). Кроме того, повышение активности энзимов в ликворе, является неспецифической реакцией на церебральное новообразование, поскольку известно, что их активность повышается при черепно-мозговой травме, эпилепсии, нейроинфекции, демиелинизирующих заболеваниях ЦНС, при повышении проницаемости ГЭБ любого генеза (Кислицин Ю.В., 2002; Lange R.P., 2014). Все это вызывает закономерное сомнение в плане верификации диагноза.

Учитывая низкую специфичность биохимических и иммунологических показателей крови и ликвора, как маркеров наличия опухолей головного мозга, важным является поиск других методов, позволяющих на раннем этапе диагностировать продолженный рост опухолей головного мозга.

Одним из перспективных, на наш взгляд, методов диагностики ОГМ является возможность использования инфракрасной спектроскопии сыворотки крови. Инфракрасная спектроскопия (ИКС) – изучение спектров поглощения и отражения электромагнитного излучения в ИК области, т.е. в диапазоне длин волн от 10^{-6} до 10^{-3} м. ИК- спектроскопия позволяет выявить весь спектр веществ в сыворотке крови, содержащих связи Р-О и С-О, связи простые и сложно эфирные С-ОО, Р-ОО к которым относятся все липиды, фосфорилированные

белки, углеводы, креатинфосовокиназа и другие соединения и располагающихся в $1200\text{--}800\text{ см}^{-1}$. Графически ИК спектр представляет собой сложную кривую с большим числом максимумов и минимумов. Она отражает спектральные характеристики (положения максимумов полос, их ширина, высота) определенной молекулы, которые зависят от масс составляющих ее атомов, геометрического строения, особенностей межатомных сил, распределения заряда и др. Поэтому ИК спектры отличаются высоким уровнем индивидуальности, что и определяет их особую ценность при идентификации и изучении строения соединений (особенно органических) (Гордецов А.С., 2010; Singh B., 2012; Bellisola G., et al., 2012).

Область ИК спектра $1400\text{--}700\text{ см}^{-1}$ используют для идентификации веществ, причем любые два вещества могут быть признаны идентичными, если их ИК спектры полностью совпадают во всех деталях. ИК-спектры абсолютно специфичны, поэтому данную область спектра органических веществ (в том числе, входящих и в состав биологических жидкостей и тканей) называют дактилоскопической «fingerprint» (Вилков Л.В., 1987). В качестве инструментального метода анализа ИКС применяется для выявления строго определенных функциональных групп в молекуле изучаемого соединения и для идентификации соединений. Так, методом ИК-спектроскопии удалось впервые определить структуру пенициллина, в то время как другими методами этого сделать не удавалось (Бреслер С. Е., Ерусалимский Б.Л., 1965).

Атомные группы молекул обладают четко определенными полосами поглощения в характерных областях спектра. Концентрация химических компонентов определяет интенсивность пиков в максимумах полос поглощения (Левинский Я.А., 1988; Шафранский Л.Л., 1988). Чем больше молекул исследуемого вещества находится на пути следования пучка света, тем больше вероятность, что квант света будет взаимодействовать с ними, поэтому, чем ниже концентрация вещества, тем менее интенсивные пики регистрируются при исследовании.

Для регистрации ИК спектров используют классические спектрофотометры и Фурье-спектрометры. Основными частями классического спектрофотометра являются источник непрерывного теплового излучения – накаливаемые электри-

ческим током стержни из различных материалов, монохроматор и приемник излучения. Кювета с веществом (в любом агрегатном состоянии) помещается перед входной (иногда за выходной) щелью. Поток излучения делится на два луча, один из которых может проходить через кювету сравнения. В качестве диспергирующего устройства монохроматора применяют призмы из различных материалов (LiF, NaCl, KCl, CsF и др.) и дифракционные решетки. Исследуемый объект сканируется излучением различных длин волн, и полученная информация определяется приемником излучения. В качестве приемников используются чувствительные термопары, металлические и полупроводниковые термосопротивления и газовые термопреобразователи. Выходной сигнал имеет вид обычной спектральной кривой, регистрируемой либо непосредственно компьютерной системой, либо на бумажном носителе (Гордецов А.С., 2010; Kazarian S.G., Chan K. L., 2013).

Метод ИКС применяется в клинической медицине достаточно редко. Первые публикации по ИК спектроскопическим исследованиям в эксперименте и клинике появились в конце 80х годов. Были изучены ИК спектры опухолей костей и выявлены четко определенные конфигурации спектрограмм в характерных для ортофосфата полосах поглощения при различных видах остеобластоматозных процессов (Шафранский Л.Л. 1988).

Имеются работы по изучению ИКС тканей в общей онкологии и нейроонкологии. В исследованиях было показано, что ИК спектры опухолевых и неопухолевых тканей при разной онкопатологии, серого и белого вещества головного мозга, тканей астроцитом и глиобластом отличаются друг от друга (Толсторожев Г.Б., 2009; Wehbe K., et al., 2010; Meyer T., et al., 2011; Kazarian S.G., Chan K. L., 2013). Проводимые исследования позволили авторам выявить спектроскопические образы, характерные для разных тканей (Noreen R., 2011; Stelling A.L. et al., 2013). Всеми авторами отмечается высокая эффективность и чувствительность метода ИКС тканей в диагностике и дифференциальной диагностике опухолевых заболеваний. Точность диагностики ЗОГМ достигает 93%. Чувствительность ИКС позволяет диагностировать опухолевые клетки при

их наличии в образцах тканей в количестве 0,2% (Steiner G. et al., 2003; Krafft C. et al., 2004, 2006, 2007). В проводимых исследованиях было показано, что ИК спектры связей N-H, C=H в белках, O-HN-H связей в липидах нормальных тканей, опухолей молочной, щитовидной желез, желудка, почки, легкого и кожи в интервале $1750-700\text{ см}^{-1}$ отличаются друг от друга. Изменения в ИК спектрах опухолевых липидов обусловлены появлением измененного строения боковых цепей радикалов жирных кислот. Отличия в спектре опухолевых белков обусловлены изменениями в надмолекулярной структуре вследствие разрывов внутримолекулярных водородных связей (Толсторожев Г.Б., 2009; Stelling A.L., 2013).

Уникальная возможность различать в ИК диапазоне даже изомеры положения одинаковых биомолекул и регистрировать отдельные атомные группировки в составе практически любых биомолекул, делает ИК-спектроскопию незаменимой для исследования таких сложных сред как сыворотка крови. Исследованиями было установлено, что область спектра поглощения, характерна для связей фосфор-кислород и является наиболее информативной при исследовании сыворотки крови (Гордецов А.С., 2010).

Так, при диагностике рака легкого способ оказался эффективен у 90 % больных, но дифференцировать гистоструктуру опухоли с помощью ИК-спектроскопии не удалось (Кукош В.И. и соавт 1995).

Имеются единичные работы о применении ИКС сыворотки крови для диагностики опухолей и дифференциальной диагностики в общей онкологии и терапии. Так, авторам удалось дифференцировать рак яичников и рак эндометрия и здоровых пациентов (Gajjar K. et al., 2013). С помощью ИКС сыворотки дифференцировали гепатоцеллюлярную карциному печени от цирроза и здоровых пациентов контрольной группы (Thumanu K. et al., 2014). ИКС позволила дифференцировать инфаркт миокарда, приступ стенокардии, инфекционный миокардит с чувствительностью в 88.5% и специфичностью в 85.1% (Petrich W. et al., 2009).

Известно, что в крови отражаются абсолютно все процессы, происходящие в организме в целом, в отдельных системах и группах клеток. Исходя из патогенеза ЗОГМ, метод ИКС сыворотки крови может быть применим для диагностики ОГМ. Так, известно, что оставшиеся после операции отдельные клетки распространяются вдоль кровеносных сосудов, по проводниковым путям мозга, вдоль базальных мембран мягких мозговых оболочек и их сосудов, со скоростью от 11 до 50 микрон в час, что зависит от разной степени анаплазии глиом. Это сопровождается нарастанием опухолевой массы (Зозуля Ю.А., 2007; Chicoine M.R., 1995; Yongzhi S., et al., 2015). Опухолевые клетки продуцируют ряд токсических молекул и протеолитических ферментов. Из известных: аспартатпротеиназы, цистеинпротеиназы, металлопротеиназы, серинпротеиназы, тенасцин, ганглиозид GD-3, TNF, VEGF, и другие. Некоторые из них вызывают цитотоксическую деструкцию самих опухолевых клеток, разрушение базальной мембраны, деградацию межклеточного матрикса (Улитин А.Ю., 2010; Han X., 2014; Sun W. et al., 2015). Все это приводит в результате к нарушению ГЭБ (Зозуля Ю.А. и соавт 1999; 2007). Образующиеся при этом недоокисленные продукты и продукты жизнедеятельности опухолевых клеток – метаболиты в конечном итоге попадают в сосудистое русло (Зозуля Ю.А. и соавт., 1999; Улитин А.Ю., 2010; Han X., 2014; Yongzhi S. et al., 2015), некоторые из них могут оказаться специфичными для ЗОГМ.

Инфракрасная спектроскопия сыворотки крови применялась для первичной диагностики ОГМ (Бояринов Г.А., 2005). Авторы на примере 67 больных, у которых ОГМ были диагностированы инструментальными методами (КТ, МРТ, АГ) и подтверждены гистологически, выявили корреляции между данными этих обследований и результатами ИКС. Однако авторы не дифференцировали злокачественные и доброкачественные опухоли, опухоли с разной морфологической структурой. Есть единичные публикации, посвященные дифференциальной диагностике ОГМ, основанной на ИКС сыворотки крови. В исследованиях отмечается, что чувствительность и специфичность при дифференциальной диагностике опухолей низкой и высокой степени анаплазии и нормы

достигает 100.00% и 95.83% соответственно. При дифференциальной диагностике доброкачественных, злокачественных опухолей, метастазов головного мозга, опухолей легких и меланом чувствительность и специфичность составляет 91.5 and 83.0 %. Авторы проводили исследования в диапазоне 4000–400 см^{-1} (Hands J.R. et al., 2013; 2014; 2016).

Таким образом, проводимые ранее исследования показывают, что изменение химического состава и соотношение фосфорсодержащих продуктов клеточного метаболизма (фосфолипиды, продукты их деградации, фосфорилированные белки, макроэрги и производные их расщепления), определяемые при ИКС сыворотки крови, может выступать надежным дифференциально-диагностическим критерием.

По-прежнему важным остается вопрос интраоперационной топической диагностики опухолей. Возможность минимально травматичного по отношению к окружающим структурам выполнения хирургического удаления ОГМ во многом зависит от точности топического диагноза. В настоящее время созданы и применяются интраоперационные методики, облегчающие процесс удаления новообразований – нейронавигация, интраоперационная ультразвуковая диагностика, флуоресцентная диагностика, лазерная спектроскопия, комбинированная спектроскопия, нейрофизиологический контроль, интраоперационные МРТ, КТ, определение моторных, сенсорных и зрительных потенциалов и т.д. (Saito T., 2015). Все интраоперационные методы диагностики основаны преимущественно на нескольких подходах: первый – регистрация контрастных веществ, накапливающихся в опухолевой сосудистой сети – КТ, МРТ, второй – регистрация метаболических изменений в тканях – МР спектроскопия, флуоресцентная спектроскопия, лазерная спектроскопия. Третий – регистрация изменений плотности тканей – ультразвуковая диагностика. Практикуется комбинирование нескольких методов интраоперационной диагностики, что усложняет, удлиняет и удорожает диагностический процесс (Горяйнов С.А. с соавт., 2012).

Современная нейроонкология практически не обходится без интраоперационного применения нейронавигации. Перенос данных МРТ или КТ на навигационную установку осуществляется в ручном режиме нейрохирургом, что не исключает появления ошибок еще при определении границ опухолевого узла, чему способствует изоденсная мозгу плотность опухоли (либо ее участков) (Коновалов А.Н. с соавт., 1997), инфильтративный рост глиальных опухолей (Deng Z. et al., 2010). Навигационные системы, представляют интраоперационно статические результаты дооперационного обследования больных. Но уже после вскрытия ТМО, при наличии внутричерепной гипертензии происходит смещение мозговых структур, нарастающее по мере удаления опухоли и аспирации ликвора, что прогрессивно снижает информативность нейронавигации (Danilchenko A., 2011; Shamir R.R., 2012).

Использование 5-АЛК в интраоперационной диагностике опухолей предполагает наличие оснащенного флуоресцентным модулем микроскопа. Чувствительность данной методики в диагностике глиальных опухолей Grade I-II составляет 58,8%, опухолей Grade III-IV – 89,7% (Горяйнов С.А., 2014).

Все это обосновывает поиск других интраоперационных диагностических методик. Глиальные опухоли имеют ряд особенностей, которые позволяют отличать патологическую ткань от окружающего неизмененного мозгового вещества. К этим особенностям относятся изменение степени васкуляризации и изменение метаболизма опухолей. Метаболизм опухолевой ткани отличается от метаболизма неизмененного мозгового вещества. Известно, что при аэробном дыхании, при окислении глюкозы, часть энергии идет на образование аденозинтрифосфата (АТФ); часть энергии расходуется в виде тепла (Иванов К.П., 2007). В злокачественных опухолях, в условиях анаэробного гликолиза, для образования того же количества АТФ необходимо больше энергии. При этом большее количество энергии израсходуется в виде тепла (Gorbach A.M. et al., 2004). Нарастание степени злокачественности опухолей чаще всего сопровождается нарастанием и степени их неоваскуляризации. Любые изменения

микроциркуляции приводят к изменениям температуры коры головного мозга (Воловик М.Г., 2003; Gorbach A.M. et al., 2003; Steiner G. et al., 2011).

Интраоперационные ТВ-исследования с функциональным методологическим подходом при различной патологии головного мозга до конца 1990-х гг. развивались преимущественно отечественными учеными (Кравец Л.Я., Воловик М.Г., 1996, 1999; Kravets L.Ya. et al., 1998 и др.). Методика термокартирования мозга применялась при опухолях (Gescheit I.M. et al., 2010). Преимуществом тепловидения является то, что оно позволяет интраоперационно, в режиме реального времени оценивать функциональные параметры очага патологии и окружающих его тканей (Kateb B. et al., 2009).

Однако до сих пор существует мнение, что использование тепловидения для топической диагностики ЗОГМ является нецелесообразным. Это может быть связано как с несовершенством применяемых ранее методологических подходов, так и с несовершенством применяемой тепловизионной техники.

1.2 Лечение злокачественных опухолей головного мозга

На основе более полувекового опыта лечения ЗОГМ сформировался наиболее эффективный комбинированный подход, включающий хирургическое удаление опухоли и послеоперационную химиолучевую терапию. В ряде работ в качестве перспективного метода рассматривается использование и иммунотерапии (Олюшин В.Е., 2001, 2012; Hottinger A.F. et al., 2014; Okonogi N. et al., 2015; Kindy M.S. et al., 2016). Но основным компонентом лечения ЗОГМ по-прежнему остается хирургический метод, что связано с достаточно низкой эффективностью адъювантных методов лечения данной патологии (Naichana L. et al., 2013).

С развитием современных технологий за последние годы в хирургическом лечении внутримозговых опухолей достигнуты определенные успехи, что позволило в настоящее время расширить показания к оперативным вмешательствам даже в тех случаях, которые ранее считались неоперабельными. Существенно снизилась послеоперационная летальность. Дооперационная МР-

трактография, интраоперационное применение нейронавигации, нейромониторинга, МРТ, картирования функциональных зон в большинстве случаев позволяет избежать повреждения функционально значимых зон, сохранить высоким качество жизни больных (Мартынов Б.В., 2011; Габидуллин А.Ф., 2015). По мере совершенствования хирургических технологий лечения ЗОГМ подходы к исполнению основных принципов хирургии, и особенностей оперативных вмешательств изменяются, но многие вопросы до сих пор остаются нерешёнными (Данилов В.И., 2012). В литературе до сих пор существуют разные мнения относительно влияния объема удаления опухоли на выживаемость пациентов. Известна даже попытка гемисферэктомии при глиобластоме, однако, рецидив опухоли возникал в контрлатеральном полушарии (Chaichana K.L. et al., 2014). Поэтому одни авторы не отмечают значимого увеличения безрецидивного периода и выживаемости больных, подвергшихся радикальному удалению опухоли (Shinoda J. et al., 2001; Oszvald A. et al., 2012; Chaichana K.L. et al., 2014; Marko N.F. et al., 2014]. В других исследованиях отмечена зависимость между объемом резецированной опухоли и сроками жизни больных (Мартынов Б.В., 2013; Roder C. et al., 2014; Li Y.M. et al., 2015). Но стремление к тотальному удалению опухолей, даже с интраоперационным использованием 3Тс МРТ, должно быть ограничено теми случаями, когда на дооперационном этапе это кажется возможным (Napolitano M., 2014). Тем не менее, по мнению ряда нейроонкологов, тотальное удаление опухоли ГМ является предпочтительным, обеспечивающим большую эффективность и преемственность последующих этапов лечения (Keles G.E., 1999; Almeida J.P, et al., 2015). Но возможность тотального удаления опухолей ограничена отсутствием границ опухоли, наличием множественных опухолей, не имеющих с основной солидной частью связи или вообще располагающихся даже в разных полушариях: глиомы с мультифокальным ростом или множественные метастазы.

Становление хирургии обусловлено в основном развитием интраоперационных технологий. Микрохирургический инструментарий, интраоперационные микроскопы с опциями флуоресцентной визуализации опухолевой

ткани, навигационные установки, интраоперационные МРТ, КТ, УЗИ-исследования, интраоперационный мониторинг функциональных зон мозга, интраоперационные лазерные технологии, криохирургия, фотодинамическая терапия, современные методы гемостаза и т.д. Без большинства из этих методик уже невозможно представить работу современной нейроонкологической клиники.

Наиболее широко применяемым методом интраоперационной диагностики являются навигационные системы, однако, они не лишены недостатков. В литературе описывается до 16 возможных ошибок при использовании навигации (Wang M.N., 2011). Наиболее важной из них является смещение мозговых структур и патологических очагов во время операции (Danilchenko A., 2011; Shamir R.R., 2012; Garlapati R. et al., 2014). До сих пор интраоперационное смещение мозговых структур и опухолей, поиск множественных опухолевых, сложности идентификации границы «опухоль-мозг» повышают риск повреждения окружающих структур.

Нередко основным методом, способным продлить жизнь нейроонкологических больных, является повторное оперативное вмешательство. Однако хирургическое удаление опухолей связано с повышением риска появления новых нарушений от операции к операции. Так, среди больных с разными различными по гистологии ОГМ в раннем послеоперационном периоде 39% нуждаются в проведении реабилитации (Розуменко В.Д., 2004). В отдаленном послеоперационном периоде (4 года после операции), среди больных с разными по гистологии ОГМ инвалиды I группы составляют 19,8%, II группы – 48,6%, III группы – 18%. И только в 12,2 % случаев инвалидизация отсутствует (Улитин А.Ю., 2005).

В настоящее время при удалении ЗОГМ во всех клиниках используется доказавшая свою эффективность микрохирургическая техника. Кажется, что она достигла такого уровня, что ее дальнейшее совершенствование вряд ли позволит значительно улучшить результаты и изменить существующее положение. Тем не менее, поиск новых подходов, способных усовершенствовать хирургическую методику, сохраняет свою актуальность.

Применение всех, даже самых современных интраоперационных технологий в нейроонкологии, не позволяет обеспечить основные принципы онкологии – абластичность и антибластичность. Этому способствует одна из особенностей глиальных опухолей – их инфильтративный рост, в процессе которого опухолевые клетки проникают в окружающее мозговое вещество. Глубина инвазии при этом различна и зависит от гистобиологических свойств опухоли, наличия в них факторов, подавляющих миграционную активность клеток и от особенностей окружающих структур мозга (Shan Y. et al., 2015; Hu Y. et al., 2016). При нарастании степени анаплазии и при продолженном росте тенденция к инфильтративному росту более выражена (Земская А.Г., 1985; Зозуля Ю.А., 2007; Hu Y. et al., 2016), поэтому глиальные опухоли удалить полностью невозможно. Это и определяет в большинстве случаев неблагоприятный прогноз заболевания (Yongzhi S. et al., 2015). Глиомы рецидивируют преимущественно из перифокальной зоны, где биохимические условия способствуют выживанию и затем прогрессии опухолевых клеток (Lemée J.M. et al., 2015). На основании этого очевидна необходимость разработки дополнительных методов воздействия, точкой приложения которых будут являться не удаленные и не выявляемые опухолевые клетки.

Развивающимися методами селективного воздействия на оставшиеся опухолевые клетки в нейроонкологии являются ФДТ и специфическая иммунотерапия (СИ). ФДТ уже более 100 лет с успехом применяется в лечении злокачественных новообразований в общей онкологии (Странадко Е.Ф., 2011). В ее основе лежит сочетание трех компонентов: фотосенсибилизатора, света и кислорода. Метод заключается во введении в организм фотосенсибилизатора с последующим локальным облучением лазерным светом с определенной длиной волны, соответствующей спектральной поглощательной способности введенного фотосенсибилизатора. Ни один из компонентов в отдельности не является токсичным, но вместе они: фотосенсибилизатор, лазерное излучение и кислород, вызывают цепные фотохимические реакции, в результате которых образуются

свободные радикалы: синглетный кислород, супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал ($\cdot OH$), ПВ (Briviba K. et al., 1997; Wang X. et al., 2015). Развивается оксидантный стресс, обуславливающий повреждение свободно-радикальных соединений (СРС) мембранных липидов и белков (Bonza-Kibangou P., 2001). Эти СРС легко присоединяют кислород, образуя при этом перекисные радикалы, обладающие более высокой реакционной способностью и вызывающие окисление липидов, углеводов, спиртов, эфиров, органических кислот. Образующиеся перекиси органических соединений, распадаясь, приводят к образованию новых радикалов, вызывая цепную реакцию окисления (реакция Габера-Вейса) и усиление в результате окислительных процессов (Владимиров Ю.А., 1991; Барабой В.А., 1997), что в результате вызывает гибель оставшихся опухолевых клеток посредством апоптоза или некроза (Зозуля Ю.А., 2000).

Обладая совершенно уникальным радикально опосредованным цитотоксическим эффектом, к методу ФДТ, не формируется устойчивость опухолей. Он может совершенно свободно использоваться в комбинации с хирургическими методами, радио- и химиотерапией без риска возникновения перекрестной резистентности или усиления токсичности (Kessel D., 1992; Pogue B.W. et al., 2003; Sinha A.K. et al., 2006; Mroz P., 2009). Отсутствуют неблагоприятные побочные системные действия по сравнению с химио- и радиотерапией (Kessel D., 1992).

Фотодинамическая терапия позволяет увеличить степень радикальности удаления опухоли за счет воздействия на опухолевые клетки в перифокальной зоне. В нейроонкологии применение ФДТ улучшает результаты терапии больных с первичными и рецидивирующими глиомами: повышается качество жизни, увеличивается безрецидивная и общая выживаемость больных (Rosenthal M.A., 2003; Muller P.J., 2006). Увеличение продолжительности жизни достигается путем повышения степени локального контроля объема удаления опухолей (Wolbers J.G., 2014). Интерес к применению данной методики в нейроонкологии

сохраняется (Олюшин В.Е., 2011; Kostron H., 2010, 2011; Whelan H.T., 2012; Quirk B.J., 2015).

Теоретические и практические вопросы применения ФДТ в нейроонкологии за более чем 20 летний период хорошо изучены, однако, до сих пор этот метод не лишен ряда осложнений: тромбоз глубоких церебральных вен, фотосенсибилизация кожи к солнечному свету, преходящий отек в зоне операции, нарастание неврологического дефицита (Stylli S.S. et al., 2005; Muller P. J. et al., 2006). В связи с этим данная методика требует дальнейшего совершенствования (Muragaki Y. et al., 2013; Chen X. et al., 2014).

При удалении ОГМ всегда механически повреждается мозговая ткань, арахноидальная оболочка мозга, нередко происходит субарахноидальное кровоизлияние, которое может распространяться за пределы трепанационного окна. В тех местах, где поврежденные участки коры головного мозга или участки с субарахноидальным кровоизлиянием и повреждением арахноидальной мозговой оболочки плотно прилежат к твердой мозговой оболочке (ТМО), уже в раннем послеоперационном периоде начинается образование оболочечно-мозговых рубцов, которые окончательно формируются в отдаленном периоде и могут приводить к возникновению эпилепсии, головных болей, к нарушению ликвороциркуляции (Keener E.B. 1959; Gonzalez-Lopez P. et al., 2015). При резекции участков ТМО, пророщенных опухолью, общеизвестной практикой является укладывание импланта, замещающего ТМО, эпидурально, и подшивание его по периметру дефекта, что не позволяет избежать развития оболочечно-мозговых рубцов в участках с повреждением ткани мозга за пределами дефекта ТМО. Повторные оперативные вмешательства при продолженном росте опухолей сопряжены с риском дополнительного повреждения мозга при осуществлении доступов к опухолям, которые, в том числе, могут распространяться за пределы доступа от предыдущей операции. Таким образом, рубцово-спаечный процесс между ТМО и головным мозгом является серьезной проблемой, возникающей после разного рода повреждений головного мозга, в том числе и после удаления

опухолей головного мозга и требующей своего решения (Fernández-Klett F., Priller J., 2014; Gonzalez-Lopez P. et al., 2015).

Использование только хирургических технологий в лечении ЗОГМ не позволяет решить две основные проблемы: предотвратить продолженный рост опухолей и существенно увеличить продолжительность жизни пациентов. Поэтому, применение других методов комплексной терапии для улучшения результатов лечения этой категории больных остается крайне важным.

Если эффективность разных методов лучевой терапии в лечении ЗОГМ не вызывает сомнений (Коновалов А.Н. и соавт., 2012; Шрамка М., Малачек М., 2003), то применение химиотерапии, как одного из компонентов лечения в плане ее эффективности, до сих пор является дискуссионным. Полностью не решенным является вопрос о путях введения химиопрепаратов, обеспечивающих максимальную их концентрацию в опухолевой ткани. В настоящее время используют внутривенный, внутриартериальный, интратекальный, интерстициальный, лимфотропный методы введения и местная химиотерапия (Juratli T.A. et al., 2013). Применение современных режимов химиотерапии и интракаротидной химиотерапии с временным разрушением ГЭБ, в частности при лимфомах, улучшает результаты комбинированной терапии нейроонкологических больных (Кобяков Г.Л., 2011).

Нейрохирурги возлагали большие надежды на развитие интракаротидного введения химиопрепаратов в лечении ЗОГМ. Однако, как показали исследования, несмотря на возможность достижения выраженного и быстрого клинического эффекта, в виде регресса опухолей, проведение интракаротидной химиотерапии даже в комбинации с лучевой терапией, не способствует существенному улучшению отдаленных результатов терапии (Fountzilas G., et al, 1997; Кобяков Г.Л., 2011).

Известно, что кратковременность контакта химиопрепарата и опухоли снижает эффективность интракаротидной химиотерапии. Так, еще в 1962 году Mendelson M.L. в экспериментальных исследованиях показал, что подавление активности 90-100% опухолевых клеток возможно только при действии препарата

в течение 7-8 дней. В более поздних исследованиях было выявлено, что продолжительность фазы синтеза клетки злокачественной астроцитомы и глиобластомы составляет 6-8 часов и более (Котельников В.М., 1978).

Другим важным фактором, ограничивающим эффективность химиотерапии, в том числе интракаротидной, является наличие ГЭБ. Основными условиями проникновения химиопрепаратов через неповрежденный ГЭБ является размер молекул вещества, степень его ионизации и растворимость в жирах. Большинство из известных в онкологии химиопрепаратов не отвечает как минимум одному из требований, что и является причиной их низкой эффективности при лечении ЗОГМ [Шабадаш А.Л., 1961; Бредбери М., 1983].

Известно, что в самой ЗОГМ ГЭБ нарушен. Тем не менее, несмотря на наличие достаточно грубых морфологических изменений сосудов в опухоли в виде преобразования капилляров в патологические сосудистые элементы упрощенного строения по типу расширенных синусоидов и лакун, через которые происходит шунтирование крови из артерий в вены, речь о полном нарушении ГЭБ не идет (Tellingен О. et al., 2015; XuY.Y. et al., 2015). В исследованиях отмечается значительная вариабельность проницаемости сосудов как в пределах одной опухоли, так и между разными гистологическими вариантами новообразований (Шамаев М.И., 1983; Мацко Д.Е., 2014). В конечном итоге, сохраняющееся ограничение проницаемости ГЭБ обосновывает необходимость исследований, направленных на его искусственное разрушение и повышение накопления химиопрепаратов в опухоли.

В литературе описано несколько методик, способных вызвать временное раскрытие ГЭБ (Tellingен О. et al., 2015; Hendricks В.К. et al., 2015). К ним относятся повышение давления в мозговых сосудах выше 90 мм рт ст, вдыхание газовой смеси с повышенным содержанием двуокиси углерода (Бредбери М., 1983). Известны вещества, способные увеличить барьерную проницаемость. К ним относятся гистамин, брадикинин, лейкотриен, блокаторы кальциевых каналов (Аронов М.Ф. и соавт., 2008; NakanoS. et al., 1994; Matsukado K. et al., 1994). Доказана роль сероводорода в повышении проницаемости ГЭБ (Zheng J.,

2015). Известно, также, что в основе механизма разрушения ГЭБ лежат СРП (Maurya S.K., 2014; Okada R., 2015).

Однако ни один из описываемых методов в широкой клинической практике не применяется. Единственный, применяемый в клинической практике метод временного разрушения ГЭБ при лечении ЗОГМ, заключается в болюсном введении гиперосмолярного раствора маннита внутриаартериально (Аронов М.Ф., и соавт., 2008; Кобяков Г.Л., 2011).

Вместе с тем этот метод имеет существенные недостатки, которые заключаются в следующем:

- наличие побочных действий – риск развития генерализованных судорог, резкая брадикардия (до 25-30 уд/мин), артериальная гипертензия, нарушение дыхания, артериальный спазм;
- недостаточная эффективность – в 25% случаях не происходит повышение проницаемости ГЭБ в ответ на введение маннита;
- наличие противопоказаний к его применению (нарушение выделительной функции почек и тяжелая недостаточность кровообращения);
- короткое терапевтическое окно – время, на протяжении которого доставка препаратов к опухоли через ГЭБ облегчается, после чего ГЭБ восстанавливается полностью. Для маннита составляет около 40 мин. (Зозуля Ю.А. 2007).

Важность повышения времени проницаемости ГЭБ заключается не только во времени контакта химиопрепарата с опухолевыми клетками, но и в том, что ряд химиопрепаратов воздействует на опухолевые клетки только в определенные фазы клеточного цикла (Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И., 1984). Например, мюстафоран действует только в фазе SG2-M клеточного цикла (Константинова М.М., 2002). Вместе с тем, активно пролиферирующие опухолевые клетки находятся в разных фазах митотического цикла. В связи с этим в клинической практике нашла широкое применение идея синхронизации деления клеток опухоли с помощью препаратов, действующих на клетку в фазе митоза. Считается, что после их применения большая часть клеток синхронно вступает в

следующую фазу деления. С этим связано применение известной схемы полихимиотерапии – PCV (натулан, ломустин, винкристин), включающей синхронизатор клеточного деления – винкристин. Вместе с тем, часть опухолевых клеток, не подвергающихся делению, находится вне митотического цикла в фазе G0 (Булкина З.П., 1991). На опухолевые клетки, которые находятся вне митотического цикла, синхронизаторы клеточного деления и большинство цитостатиков, применяемых в стандартных режимах, не действуют. Кроме того, по некоторым данным степень синхронизации опухолей низкая – менее 1%. Это обстоятельство снижает эффективность химиотерапии (Франкфурт О.С., 1976; Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И., 1984). Поэтому кратковременное повышение проницаемости ГЭБ при интракаротидной химиотерапии не позволяет оказывать воздействие противоопухолевыми препаратами на существенную часть опухолевых клеток.

Оценивая катамнез и возможные осложнения, интерес к интракаротидной химиотерапии снизился. Однако, учитывая возможность повышения концентрации химиопрепарата в опухоли при внутриартериальном введении, по сравнению с другими методами, дальнейшее совершенствование метода интракаротидной химиотерапии сохраняет свою актуальность (Cheng Y., 2014; Peschillo S., et al., 2015).

Важной причиной низкой эффективности химиотерапии является резистентность опухолей. Одной из главных причин неудач химиотерапии является первичная и приобретенная химиорезистентность ЗОГМ к терапевтическому воздействию. Механизмы резистентности обусловлены многими факторами и до настоящего времени полностью не изучены. Активно изучаемая генетически обусловленная резистентность ЗОГМ (Зозуля Ю.А., 2007; Kwon S.M. et al., 2015; Yin Y. et al., 2016) отнюдь не единственный и не главный фактор устойчивости.

Проведенный нами анализ данных литературы, посвященной изучению резистентности, позволил выявить несколько важных закономерностей. Известно, что опухоли головного мозга находятся в состоянии гипоксии (Joseph J.V. et

al., 2015; Xie Q. et al., 2016; Ishii A. et al., 2016). Гипоксия ЗОГМ важна тем, что она обуславливает их химио- и радиорезистентность Kim S.S. et al., 2013; Sørensen M.D. et al., 2015). Так, в условиях эксперимента даже временная экспозиция глиальных клеток в условиях гипоксии, приводит к формированию их устойчивости к воздействию химиопрепаратами (Liang B.C., 1996).

Убедительным доказательством важной роли гипоксии в формировании устойчивости опухолей является возможность повышения их чувствительности к химио- и радиотерапии путем применения препаратов или методик, способных повысить оксигенацию опухолей. Давно известно, что достаточно эффективным радиосенсибилизатором является кислород. Идея повышения радиочувствительности опухолей, устойчивых к лучевой терапии, с помощью кислорода, принадлежит Gray L.H. Автор еще в начале 50-х годов предложил повышать насыщение опухолевых клеток кислородом, помещая больного в барокамеру во время сеанса лучевой терапии. Были получены положительные результаты (Gray L.H. et al., 1953). Для повышения радиочувствительности опухолевых тканей в эксперименте и клинике известно применение различных методов повышения PO_2 в тканях: вдыхание газовой смеси с повышенным содержанием кислорода, внутри-артериальные инфузии растворов ПВ низких концентраций, повышение АД, медикаментозная стимуляция окислительного метаболизма тканей, гипертермия (Горбачевич Л.И., Тимофеев Н.Н., 1972; Ozawa T. et al., 1999; Man J. et al., 2015). В условиях эксперимента выявлено, что дополнительная перфузия очищенного раствора гемоглобина с целью повышения оксигенации имплантированной подкожно глиосаркомы, с исходной гипоксией опухолевой массы до 49%, сопровождалась увеличением ее оксигенации на 24%. При этом применение 4 видов химиопрепаратов алкилирующего механизма действия обеспечивало увеличение продолжительности жизни животных в 2 раза по сравнению с проведением только химиотерапии (Teicher B.A. et al., 1993).

Механизм противоопухолевого действия лучевой терапии и ряда противоопухолевых препаратов связан с образованием активных форм кислорода и зависит в основном от интенсивности окислительных процессов в опухоли

(Булкина З.П., 1991; Friesen C. et al., 1999). Эти процессы развиваются при обязательном участии таких нестойких свободных радикалов как синглетный кислород, $^{\circ}\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$, ПВ и др. (Тараховский А.М. и соавт., 1983). Цитотоксическая активность свободных радикалов не зависит от клеточного цикла, не связана с какими-то определенными механизмами клеточного деления, а осуществляется путем прямого повреждающего воздействия на липидные, белковые комплексы мембран, внутриклеточные компоненты. Поэтому в лечении опухолей, устойчивых к обычным методам терапии, могут быть полезными пероксид-генерирующие соединения.

Центральные отделы опухоли находятся в состоянии гипоксии, что вызывает нарастание процессов ПОЛ, и сопровождается гибелью опухолевых клеток, происходит формирование центрального некроза, а зачастую и кист распада (Зозуля Ю.А., 2007). Но в то же время опухолевая периферия характеризуется оптимальными условиями снабжения кислородом. Тем не менее, проводимая лучевая или химиотерапия во многих случаях оказывается неэффективной, и опухолевые клетки периферической зоны активно пролиферируют, обеспечивая тем самым продолженный рост (Lemée J.M., et al., 2015).

Другим важным фактором резистентности активно растущих опухолей является наличие в них мощных антиоксидантных систем (АОС), которые значительно ограничивают свободно-радикальные процессы (СРП), способствуя тем самым дальнейшей пролиферации опухолей. Интенсивно растущие злокачественные опухоли накапливают большое количество жирорастворимых биоантиоксидантов (каталаза, супероксид дисмутаза (СОД), глутатион, витамин Е, цинк, селен и др.) за счет их “перекачивания” через кровь с печени и других здоровых тканей (Тарусов Б.Н., 1976). Марганец содержащая СОД значительно снижает цитотоксический эффект альфа-тумор некротизирующего фактора, ионизирующей радиации и некоторых химиопрепаратов. Примечательно, что в нормальной мозговой ткани этого антиоксиданта нет. Он

обнаруживается в значительных количествах в таких опухолях центральной нервной системы как метастазы, глиомы III степени злокачественности и особенно глиобластомы (Cobbs C.S. et al., 1996). При облучении лабораторных животных-опухоленосителей, индуцируемая ионизирующей радиацией вспышка перекисного окисления липидов (ПОЛ) уже через 10-13 мин сменяется снижением интенсивности этого процесса на 30-50% за счет антиоксидантов (АО) резервов опухоли (Барабой В.А., и соавт., 1991). В высокоустойчивых линиях опухолевых клеток обнаружено снижение продукции OH^- радикала на 20% по сравнению с чувствительными, что обусловлено активностью АО: СОД, каталазы и глутатиона (Anuszevska E.L. et al., 1997).

Несмотря на доказанную эффективность, изучению возможности модификации резистентности, обусловленной гипоксией и АО активностью, уделяется неоправданно мало внимания. До настоящего времени не существует методик, препаратов, способных эффективно повысить оксигенацию, истощить АО резервы и, таким образом, чувствительность ОГМ к химиотерапии.

Уникальным веществом, способным повысить pO_2 в опухоли, стимулировать СРП в ней и тем самым снизить ее АО резервы, является озон. Учитывая патогенез ЗОГМ, роль прооксидантных процессов в механизме действия ряда химиопрепаратов, перспективным является использование ОФР в качестве источника СРС и повышающего pO_2 в тканях.

Озон – нестойкое соединение, обладает высокой реакционной способностью. Взаимодействуя с водой, металлами переменной валентности, липидами биомембран озон, распадаясь, приводит к образованию большого количества таких высокореактивных СРС как $^{\circ}\text{O}_2^-$, $\text{O}_2\cdot\text{OH}$, ПВ, липидные радикалы и т.д. (Алехина С.П., 2003). Эти свободно-радикальные производные озона чрезвычайно высокореактивны, поэтому он обладает мощным цитотоксическим действием. Еще в 1980 г в условиях *in vitro*, изучалось влияние озона на культуры опухолевых клеток легких, молочной железы и матки. Было выявлено ингибирующее влияние на рост опухолей в 90%. Авторами особо подчеркнуто,

что в опухолевых клетках по сравнению с нормальными способность компенсировать окислительный взрыв, вызванный озоном, резко снижена (Sweet F., 1980). Мощное цитотоксическое действие озона обусловлено сильными проокислительными свойствами. Даже самые низкие концентрации озона (0,2 мкмоль/мг белка) уже способны вызывать окисление липидов (Мартынова М.А., 1995).

Обладая идентичными как в случае с перекисью водорода и железом проокислительными свойствами, озон обеспечивает модифицирующий эффект как лучевой, так и химиотерапии. В эксперименте было показано, что применение озона в физиологическом растворе повышает чувствительность экспериментальных опухолей к химиотерапии препаратом 5-фторурацил и доксорубин (Клинцова Е.С., 2007). В условиях *in vitro* был показан синергизм действия озона и химиопрепарата 5-фтор-урацил на опухолевые клетки рака толстой кишки и молочной железы (Zanker K., 1989). Сочетание озонотерапии и лучевой терапии при лечении экспериментального канцероматоза увеличивает выживаемость животных (Kızıltan H.Ş., et al., 2015).

Известно успешное применение интра- паратуморального и внутрибрюшинного введения озонированного физиологического раствора (ОФР), при лечении экспериментальной лимфосаркомы Плисса у животных как в качестве самостоятельного метода, так и в комбинации с лучевой терапией (Щербатюк Т.Г., 2000).

Наряду с влиянием озона на окислительный гомеостаз достаточно изученным является его действие на иммунную систему. Озон оказывает и иммунокорректирующее действие. Отмечается повышение активности иммунокомпетентных клеток, усиливается продукция цитокинов – интерлейкины: 2, 4, 6, 10, интерферон- γ , а также фактор некроза опухоли (Larini A. et al 2001; Rossmann A. et al., 2014).

Вместе с тем, в некоторых экспериментальных исследованиях встречаются и отрицательные данные об использовании озона. Так, в более поздних исследованиях, также в условиях эксперимента выявлено, что при паратумо-

розном ведении озона в концентрации 900 мкг/л, в 17% случаев наблюдалось метастазирование лимфосаркомы Плисса (Алехина С.П., 2003). При внутрибрюшном введении озонированного физиологического раствора было также отмечено увеличение объема экспериментальных опухолей, в частности глиомы C6 (Pérez A. et al., 2015).

Большинство клинических исследований направлены на изучение в основном системного влияния озонотерапии. При этом из парентеральных методов озонотерапии, наиболее изученным является внутривенный путь введения. Известны единичные исследования внутриартериального введения озона для достижения повышения оксигенации регионарных тканей. Так, введение озонированного физиологического раствора в надчревную артерию больным с гнойно-некротическими поражениями конечностей сопровождается повышением парциального напряжения кислорода в тканях на 33,6%, и составляло $37,20 \pm 0,90$ мм. рт. ст. При этом авторы отмечают, что использование традиционной терапии повышало pO_2 тканей всего на 5,5%. При лечении облитерирующих заболеваний сосудов нижних конечностей путем внутриартериального введения ОФР отмечалось повышение pO_2 в коже голени до 116% (Атясов Н.И. и соавт. 2000).

Несмотря на кажущуюся опасность клинического применения озонотерапии в нейроонкологии в плане риска повреждения ткани мозга, следует отметить, что АО защита головного мозга намного выше других тканей организма. Так, известно, что уровень стационарного ПОЛ в мозге выше в 5-6 раз по сравнению с печенью (Димант И.Н., 1992). При изучении резистентности ишемизированных тканей к инициированию СРО перекисью водорода было выявлено, что СРО миокарда, почек, печени нарастало. Но величина хемилюминесценции ишемизированного и интактного мозга существенно не отличались друг от друга (Коган А.Х., 1976).

Метод озонотерапии применяется в общей онкологии. Однако в нейроонкологии методика озонотерапии не применяется. Вместе с тем, способность образовывать СРС, участвовать в реакциях с металлами переменной

валентности, повышать pO_2 в тканях при внутриартериальном введении обосновывает перспективность его использования и в нейроонкологии, что может быть подтверждено особенностями патогенеза ЗОГМ.

Одним из направлений исследований, повышающих эффективность химиотерапии ЗОГМ, является поиск веществ или методик, модифицирующих действие уже известных препаратов, сенсibiliзирующих опухоли к проводимому лечению (Giunti L., 2014).

В этом плане интересным и новым направлением в общей онкологии является метод БКТ, в основе которой лежит окисление аскорбиновой кислоты, катализируемое комплексами металлов, с образованием внутри клеток АФК и ПВ (Сыркин А.Б. и соавт 1998; Герасимова Г.К., 2006). В эксперименте было показано, что бинарная каталитическая терапия (БКС) обладает химиосенсибилизирующими свойствами, повышая эффективность химиотерапии. Так, применение одного из синтезированных в ФГУП «ГНЦ «НОИПК» препаратов, терафтал повышает эффективность химиотерапии препаратами цисплатины, что было показано в эксперименте в условиях *in vivo* при лечении мышей с асцитной опухолью Эрлиха. Такой подход к лечению позволил, снизить дозу химиопрепарата на половину (Райхлин Н.Т., 1996). Тф также используется в качестве катализатора при бинарной каталитической терапии рака (Филоненко Д.В. и соавт., 2012).

Нерешенной на сегодня остается проблема сроков начала и проведения химиотерапии и необходимого количества курсов лечения. Патогенетически обоснованных сроков назначения химиотерапии в литературе нами не выявлено.

В послеоперационном периоде химиотерапия обычно назначается в разные сроки – от 3 до 14 дней после операции (Марченко С.В., 1997). Обычно принято проводить 4-8 курсов ХТ с периодичностью в 4-6 нед. Основным критерием проведения очередного курса химиотерапии по-прежнему являются гематологические показатели или данные обследования больного – МРТ или ПЭТ-КТ (Константинова М.М., 2002).

Оставшиеся после операции не удаленные опухолевые клетки в перифокальной зоне могут длительно находиться в неактивном состоянии в течение ряда месяцев и даже лет (Ярмоненко С.П., 1976; 1980). Популяцию опухолевых клеток разделяют на четыре фракции: делящиеся клетки; временно не делящиеся; клетки, потерявшие способность к делению; и клетки в стадии гибели. Экспериментально было показано, что величина пролиферативного пула опухоли обычно варьирует от 10 до 100%. Но по мере увеличения объема опухоли величина пролиферативного пула, чувствительного к химиолучевому воздействию, как правило, прогрессивно снижается (Франкфурт О.С., 1976).

Проводимая химиотерапия или лучевая терапия являются мощным фактором отбора устойчивых к терапевтическому воздействию клеток. Попытки повторной терапии теми же методиками чаще всего не приводят к успеху (Зінченко В.А., 1998; Календа Г.С. и соавт., 2001). В последующем эти клетки и являются резервом в развитии продолженного роста опухолей. Поэтому течение продолженного роста ЗОГМ более агрессивное: обычно нарастает степень злокачественности, более быстрый рост, опухоль менее чувствительна к химиолучевому воздействию.

После уничтожения клеток, находящихся в митотическом цикле, продолженный рост опухоли обеспечивает также фракция временно не делящихся клеток. Факторами, способствующими переходу этой группы клеток в митотический цикл, могут быть оперативное вмешательство, лучевая, химиотерапия и другие, неизвестные факторы (Ярмоненко С.П. и соавт., 1976). Продолженный рост опухоли может возникать в период от нескольких недель до года.

Курсы ХТ в послеоперационном периоде назначают при появлении признаков продолженного роста опухоли, по данным перфузионной КТ или МРТ. Известны попытки определения показаний к ХТ опухолей путем измерения величины общего азота в организме (ОАО), определяемого путем анализа захвата нейтронов при облучении тела пациента быстрыми нейтронами. При изменении показателя ОАО после облучения, авторы определяли показания к проведению полихимиотерапии (Aslani A., 2000).

Известен способ определения показаний к лучевой терапии, основанный на определении радиочувствительности общих лейкоцитов крови до начала лучевой терапии (Иванов С.Д. и др., 1999). Он позволяет прогнозировать лейкопению как осложнение при проведении радикальной лучевой терапии, являющуюся результатом лучевого поражения организма пациента. Эти же авторы по величине отношения концентрации ДНК лейкоцитов необлученной пробы крови к концентрации ДНК лейкоцитов облученной пробы крови судили о показаниях к проведению противоопухолевого лечения (Иванов С.Д., 2003). Изучается связь между микро РНК и эндоплазматическим ретикулумом в определении чувствительности глиобластом к химиотерапии (Lee D., 2015).

Однако перечисленные методы не информативны для определения показаний к проведению противоопухолевого лечения, так как они с большой вероятностью могут свидетельствовать лишь о влиянии на организм проведенного лечения, прогнозируют степень возможной токсичности, или определяют чувствительность иммунной или кроветворной систем организма больного к проведению химиолучевой терапии по показателям кроветворения. Указанные методы отражают только возможность проведения химиотерапии и дают лишь опосредованные показания к ней. Ни один из предлагаемых способов не позволяет определить необходимость назначения химиотерапии, которая должна быть основана на оценке активности опухолевого процесса, на наличии признаков продолженного роста опухоли, что является главным в определении показаний к проведению химиотерапии.

Вместе с тем, необоснованное проведение химиолучевой терапии нецелесообразно по нескольким причинам. Во-первых, оставшиеся после операции опухолевые клетки могут длительно существовать вне пролиферативного пула, являются устойчивыми к воздействию лучевой и химиотерапии. Во-вторых, большинство цитостатиков является мутагенами, поэтому необоснованная химиолучевая терапия может способствовать появлению новых опухолей, приводить к ослаблению иммунной системы (Педаченко Е.Г., 1988; Улитин А.Ю., 2007). В-третьих, противоопухолевая терапия приводит к

ухудшению показателей периферической крови в виде миелодепрессии и, в первую очередь, нейтропении. Это в последующем ограничивает возможности химиотерапии при появлении рецидива заболевания и необходимости противоопухолевого лечения.

Эффективных, доступных методов, позволяющих определить начало активации оставшихся единичных злокачественных клеток не существует.

Единственным методом селективного воздействия на опухоли, не оказывающим никакого повреждающего эффекта на нормальные клетки организма, является иммунотерапия. В настоящее время особенно активно разрабатываются методы, направленные на активацию естественного противоопухолевого иммунитета, в частности методы специфической активной иммунотерапии. Одним из наиболее перспективных направлений иммунотерапии онкологических заболеваний является применение противоопухолевых вакцин на основе дендритных клеток (ДК). ДК получают обычно либо из CD34 гематопоетических предшественников, либо из моноцитов периферической крови, которые могут дифференцироваться либо в макрофаги, либо в дендритные клетки, которые нацелены на индукцию специфического иммунного ответа. Цель ДК-терапии злокачественных опухолей – стимуляция иммунного ответа против опухолевых АГ.

Дендритные клетки являются наиболее эффективными из известных на сегодняшний день антиген представляющих клеток. Центральная роль ДК в иммунорегуляции обусловлена их уникальной способностью инициировать АГ специфический иммунный ответ через главные комплексы гистосовместимости 1го так и 2го типов (Albert M.L. et al., 1998; Heath W.R. et al., 2004). Это и обуславливает все возрастающий интерес исследователей к ДК с целью создания противоопухолевых вакцин в нейроонкологии (Nava S. et al., 2015; Hdeib A., Sloan A.E., 2015; Finocchiaro G., Pellegatta S., 2016).

Действие ДК вакцины было исследовано экспериментально. Введение противоопухолевой вакцины мышам, которым была интрацеребрально имплантирована опухоль, более чем на 160% увеличивала медиану

выживаемости, половина животных выжила в течение длительного времени. Гистологически выявлялись только фокальные очаги демиелинизации в области имплантации опухоли, признаков индукции ДК вакциной аутоиммунного энцефаломиелита не было (Heimberger A.V. et al., 2000). Результаты исследований показывают, что у больных, получающих специфическую противоопухолевую иммунотерапию, продолжительность жизни увеличивается, а после последней операции превышает интервал между последними операциями, чего не наблюдалось до начала иммунотерапии (Бажанов С.П. и др., 2008; Polyzoidis S., et al., 2015). В настоящее время проводится много разных клинических исследований, преимущественно I-II фазах, и только некоторые из них достигли III фазы, по изучению эффективности вакцинотерпии глиобластом. Результаты исследований многообещающие, во всех убедительно отмечается повышение ВП и МОВ больных (Bloch O., 2015; Calinescu A.A. et al., 2015; Lamano J.V. et al., 2016).

Но ДК все же не всегда эффективно проявляют АГ представляющую способность, что обусловлено снижением экспрессии костимулирующих поверхностных молекул CD80 и CD86, высоким уровнем опухолеспецифической толерантности (Шубина И.Ж. и др., 2015; Steinman R.M., 2003). У злокачественных опухолей существует много разных способов ухода от иммунологического контроля (Олюшин В.Е., 2011; Radoja S. et al., 2000; Inaba T., 2010).

Несмотря на ряд неизвестных до настоящего времени механизмов нарушения разных звеньев иммунитета при ЗОГМ, большей частью эмпирические результаты все же убеждают своей эффективностью в важности и перспективности разработки этого направления исследований.

Наряду с обычным, закономерным течением опухолевого процесса – постепенная трансформация в низко- и недифференцированные опухоли, в общей онкологии есть данные о переходе злокачественных опухолей с высокой степенью анаплазии в опухоли с меньшей степенью анаплазии - обратная трансформация (дифференцировка). Одним из новых подходов к лечению ЗОГМ является поиск методов, направленных на индукцию дифференцировки глиальных опухолей и торможение пролиферации. Экспериментальные

исследования показывают возможность индукции дифференцировки глиальных опухолевых клеток в зрелые глиальные клетки (Terés S. et al., 2012; Zhuang W. 2012; Stockhausen M.T. et al., 2014). Описываются разные механизмы дифференцировки, однако механизм этого явления окончательно пока не ясен (Анисимов А.Г., 2002). В литературе упоминаются единичные случаи дифференцировки злокачественных опухолей головного мозга, подтвержденные морфологически при повторных оперативных вмешательствах (Yang M.M. et al., 2012). Исследования по дифференцировке опухолевых клеток *invitro* свидетельствуют о возможности такого пути развития, когда опухолевые клетки перестают воспроизводить себе подобных, и становятся более дифференцированными (Zhuang W. et al., 2012; Terés S. et al., 2012; Chao C.C. et al., 2015; Yan Y., Jiang Y., 2016). Данных о возможности дифференцировки глиобластом в раннем послеоперационном периоде, подтвержденных биохимически, с помощью физико-химических методов или нейровизуализационными методами в литературе не выявлено.

Ни один из существующих методов терапии не позволил добиться значимого эффекта в лечении по-прежнему самых злокачественных опухолей - глиобластом. Поэтому остаются актуальными исследования, направленные на разработку новых подходов к лечению этой патологии (JovčevskaI., 2013). Доказанная экспериментально возможность лечения глиобластом путем направленной дифференцировки свидетельствует о важности данного направления исследований.

Таким образом, на основании проведенного анализа литературы можно констатировать, что в настоящее время методов, способных существенно улучшить результаты терапии ЗОГМ, - нет. Использование всех современных технологий в лечении этой патологии не позволяет предотвратить продолженный рост опухолей.

Резюмируя вышеизложенное, мы в настоящем исследовании сочли целесообразным акцентировать внимание на следующих нерешенных и

дискутабельных проблемах диагностики и лечения злокачественных опухолей головного мозга.

В лечении ЗОГМ существует две основные проблемы: отсутствие эффективных методов ранней первичной диагностики опухолей головного мозга, и их продолженного роста, низкая эффективность противоопухолевого лечения, включающая как хирургический этап, так и послеоперационную терапию. Анализ литературы показывает, что применяемые методы диагностики не позволяют на раннем этапе диагностировать наличие опухолей головного мозга, в том числе их продолженный рост. Это приводит к поздней диагностике, к росту опухолей больших размеров, позднему началу терапии, ухудшению качества жизни больных после операции и нередко отказу от лечения. Одной из причин поздней диагностики является отсутствие скрининговых программ. Для этого необходим метод, близкий к скринингу, или являющийся таковым. Поэтому поиск новых, эффективных методов диагностики ОГМ, в том числе их продолженного роста является важным и актуальным направлением исследований.

Исходя из данных литературы и патогенеза ЗОГМ, эффективным в плане не только диагностики первичных опухолей, но и ранней диагностики продолженного роста опухоли может быть метод ИКС сыворотки крови. Поскольку в сыворотку крови попадают вещества, проникающие через нарушенный опухолью ГЭБ, а метод ИКС позволяет выявлять и с высокой точностью дифференцировать органические вещества, ИКС сыворотки крови может оказаться незаменимым методом диагностики для исследования такой сложной среды, которой является сыворотка крови.

Анализ литературы свидетельствует, что некоторые вопросы хирургических подходов к удалению ЗОГМ до сих пор остаются не решёнными. Наличие множественных, глубинно расположенных, небольших образований при условии постоянного смещения мозговых структур по ходу операции, обосновывает поиск более информативных интраоперационных диагностических методов и необходимость совершенствования хирургических методов удаления множественных опухолей и опухолей, не имеющих четких границ с окружающим

мозговым веществом. Поскольку опухоль головного мозга приводит к тем или иным изменениям как микроциркуляции, так и метаболизма патологической ткани, что, соответственно, меняет тепловизионную картину, как в области проекции опухоли, так и прилежащих тканей, перспективным для интраоперационной диагностики опухолей является метод тепловизионного исследования, основанный на использовании современного оборудования.

Достаточно активно применяемым методом интраоперационного воздействия на оставшиеся не удаленными опухолевые клетки является ФДТ опухолей головного мозга. Однако он имеет ряд недостатков, что обосновывает необходимость усовершенствование этого метода.

Таким образом, проблема совершенствования оперативной техники, разработка разных интраоперационных диагностических, хирургических и технических методик, способных повысить радикальность операции, снизить риск интраоперационного повреждения мозговых структур, облегчить выполнение повторных оперативных вмешательств сохраняют свою актуальность.

В настоящее время активно развивающимся методом является вакцинотерапия ЗОГМ. Однако вакцинотерапия на основе ДК является еще не до конца изученным методом. Вместе с тем, положительные результаты от этой методики в нейроонкологии неоспоримы, что обосновывает необходимость дальнейшего проведения исследований, направленных на совершенствование методики и повышение эффективности вакцинотерапии.

Одним из важных недостатков противоопухолевого химиотерапевтического лечения является преимущественно эмпирический характер его назначения, базирующийся на таких характеристиках как гистологический тип, степень дифференцировки, локализация опухоли, характер распространения опухолевого процесса, общее состояние больного, данные КТ или МРТ, показатели анализа крови и т.д. Существующие стандарты в лечении ЗОГМ не учитывают индивидуальные особенности течения заболевания у больных, поэтому перспективным является разработка поиск биомаркеров эффективности лечения и разработка индивидуального подхода к терапии больных ЗОГМ.

На протяжении многих лет химиотерапия ЗОГМ используется с минимальным эффектом. Это обосновывает поиск более эффективных схем и методов химиотерапии. Низкая эффективность химиотерапии обусловлена многими факторами. Одной из важных причин является наличие резистентности опухолей к проводимой терапии. Анализ литературы показывает, что разработка методов, направленных на уничтожение опухолевых клеток путем повышения их оксигенации, снижения АО потенциала опухолей и стимуляция образования в опухолевых клетках СРС перспективное направление исследований. Исходя из патогенеза опухолей головного мозга, в нашей работе мы исследовали возможность применения озона и веществ, содержащих металлы переменной валентности в качестве сенситизаторов химиотерапии.

Стремление к повышению эффективности интракаротидной химиотерапии обосновывает необходимость разработки более эффективной методики повышения проницаемости ГЭБ, что является одним из перспективных направлений разработки методов направленного транспорта противоопухолевых препаратов.

Перспективным направлением научных исследований является изучение дифференцировки ОГМ, их влияние на лечебную тактику. Многие вопросы этой проблемы остаются на сегодня неизвестными. Поэтому изучение этого феномена сохраняет свою значимость.

На обозначенных выше аспектах проблемы злокачественных опухолей головного мозга мы и акцентировали внимание в настоящей работе.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАБЛЮДЕНИЙ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Характеристика клинических наблюдений

Работа основана на результатах обследования и лечения 432 больных ОГМ. Из них 369 больным с известным катамнезом проведен анализ результатов комплексного лечения. Эти больные проходили лечение в Нижегородском нейрохирургическом центре им А.П. Фраермана, Нижегородской областной клинической больнице им. Н.А. Семашко и в ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России за период с 2000 по 2015 гг. Соискатель работал в указанных учреждениях в этот период, лечил и наблюдал подавляющее большинство больных лично.

Из 369 больных основной группы, первично поступило 217 (58,81%) пациентов. Из них опухоль Grade I-II выявлена у 34 (15,67%) больных, Grade III – у 33 (15,21%), Grade IV – у 115 (53,0%), метастазы выявлены у 28 (12,9%) пациентов, опухоль морфологически не была идентифицирована у 7 (3,22%) пациентов.

По поводу продолженного роста опухоли проходили лечение 132 (35,77%) больных.

Из них дважды оперирован 91 (68,94%) пациент. В этой группе опухоль Grade II имелась у 7 (7,69%) больных, Grade III – у 28 (30,77%), Grade IV – у 56 (61,54%) больных. Трижды оперировано 30 (22,73%) больных. Из них опухоль Grade II выявлена у 3 (10%) пациентов, Grade III – у 8 (26,67%) больных, Grade IV у 19 (63,33%) больных. Четыре раза и более (6 раз) оперировано 11 (8,33%) пациентов. Из них опухоль Grade III выявлена у 6 (54,55%) и Grade IV – у 5 (45,45%) больных. Оперирован 6 раз один больной с олигодендроглиомой Grade III. Не были оперированы 19 (5,14%) пациентов. Из них признано неоперабельными 13 (68,42%) пациентов, отказались от операции больные или их

родственники в 5 (26,32%) случаях. Один больной (5,26%) умер в отделении до операции.

Больных с опухолями, расположенными в доминантном полушарии, было 157, что составило (42,55 %). Из них в лобной области локализованы опухоли у 21 (13,38 %) пациента, в теменной – у 36 (22,93 %), в височной – у 39 (24,84 %), в затылочной – у 4 больных (2,55 %). Опухоли, прорастающие две и более доли головного мозга, имелись у 57 (36,31 %) больных.

Больных с опухолями, расположенными в недоминантном полушарии, было 159, что составило (43,09 %). Из них в лобной области локализованы опухоли у 25 (15,72 %) больных, в теменной – у 22 (13,84 %), в височной – у 37 (23,27 %), в затылочной – у 6 (3,77 %) пациентов, прорастающие две и более доли головного мозга – у 69 (43,4 %) больных.

С опухолями, расположенными преимущественно срединно и распространяющимися в желудочки мозга, было 53 (14,36 %) больных. В том числе, к этой локализации отнесены 2 (9,09%) больных с множественными метастазами, поражающими оба полушария головного мозга (таблица 1).

Таблица 1. – Распределение больных в зависимости от локализации опухоли

Полушарие головного мозга (n)	Лобная доля/* (n/n*)	Теменная доля/* (n/n*)	Височная доля/* (n/n*)	Затылоч- ная доля/* (n/n*)	Две и более доли* (n/n*)	Базальные ядра, желудоч- ек и др* (n)
Доминантное (157)	21/11	36/3	39/7	4/0	57/2	20
Недоминантное (159)	25/3	22/3	37/1	6/0	69/2	1

* - количество больных с медиальным и внутрижелудочковым распространением опухоли.

Значимой разницы по локализации опухолей в доминантном и недоминантном полушарии нами не выявлено. Большинство ЗОГМ характеризуется ростом в височной доле и выходят за пределы одной анатомической зоны. С медиальным распространением и с ростом в желудочки мозга опухоли располагались преимущественно в доминантном полушарии.

Состояние больных при поступлении в нейрохирургические клиники по шкале Карновского в зависимости от локализации опухоли представлено в таблице 2.

Таблица 2. – Качество жизни по шкале Карновского при поступлении в стационар

Локализация опухоли	Состояние по шкале Карновского (%)							Среднее значение
	30	40	50	60	70	80	90, 100	
Доминантное полушарие (n)	2	8	23	35	64	26	17	66,57
Недоминантное полушарие (n)		11	14	32	62	40	11	68,54
Срединное расположение (n)	—	4	2	5	19	11	3	69

При поступлении в стационар большинство больных со ЗОГМ, расположенными как в доминантном, так и недоминантном полушарии, находились в компенсированном состоянии.

Рассматриваемые нами наблюдения включают больных в возрасте 8-75 лет. В возрасте до 20 лет было 8 (2,17%) больных, от 21 до 30 лет – 38 (10,3%), от 31 до 40 лет – 63 (17,07%), от 41 до 50 лет – 97 (26,29%), от 51 до 60 лет – 108 (29,27%) и старше 61 года было 55 (14,91%) пациентов.

У 195 (52,85%) больных имелись опухоли Grade IV, из них первичные опухоли – у 162 (83,08%), вторичные глиобластомы – у 33 (16,92%), у 75 (20,33%) – Grade III, у 45 (12,2%) пациентов выявлены опухоли Grade I-II. У 28 (7,58%) больных диагностировано метастатическое поражение головного мозга, у 1 (0,27%) пациента выявлена лимфома. У 6 (1,63%) оперированных больных в период с 2001 по 2004 гг. опухоль при гистологическом исследовании выявлена не была, двое пациентов живы до сих пор, у 4 больных причина смерти – опухоль головного мозга, подтвержденная при аутопсии (таблица 3).

Таблица 3. – Распределение больных по полу и возрасту в зависимости от степени анаплазии

Степень анаплазии	Число б-х	Возраст						%
		До 20	21-30	31-40	41-50	51-60	61 и более	
Grade I-II	45	1	7	11	15	9	2	13
Grade III	75	3	10	20	22	15	5	20,32
Grade IV	195	4	15	30	46	65	35	52,84
Не оперировано	19	—	2	1	10	4	3	5,12
метастазы	28	—	2	2	4	12	8	7,57
Лимфома	1	—		—	1	—	—	0,26
Опух не выявлено	6		1		1	3	1	1,62
Итого	369	8	37	64	99	107	54	100

При распределении больных по группам в зависимости от результатов гистологических исследований мы пользовались международной классификацией ВОЗ (Lyon, 2007). Согласно классификации к опухолям Grade IV отнесены глиобластомы, медуллобластомы, к опухолям Grade III – анапластические астроцитомы, дедифференцированные менингиомы, к опухолям Grade II – астроцитомы.

Согласно классификации Daumas-Duport С. (1992), основой для определения степени злокачественности всех нейроэпителиальных опухолей является выделение четырех основных критериев: ядерного полиморфизма, митозов, эндотелиальной пролиферации, некрозов. Исходя из наличия или отсутствия этих признаков, выделяют следующие степени злокачественности: I – отсутствие признаков (критериев) злокачественности, II – наличие одного из признаков (критериев) злокачественности, III – наличие двух признаков (критериев) злокачественности, IV – наличие не менее трех признаков (критериев) злокачественности (Мацко Д.Е., 2015; Daumas-Duport С., 1992).

Проведенный нами анализ показывает, что в основной группе преобладали больные с опухолями Grade IV. Среди них максимальная заболеваемость приходится на возраст 40-60 лет и более. Из 65 больных с опухолями Grade I-II у

17 пациентов диагностировано нарастание степени анаплазии до Grade III и IV. В группе больных с опухолями Grade I-II отмечается смещение пика заболеваемости к более молодому возрасту и составляет максимум в 30-50 лет. Заболеваемость опухолями Grade III также максимальная в возрасте 40-60 лет. Максимальная заболеваемость больных с метастатическим поражением головного мозга приходится на возраст 50-60 лет и более. В этой группе у 6 (21,43%) больных первичный очаг располагался в молочной железе, у 2 (7,14%) – в легких, у 2 (7,14%) – в почках, у 1 (3,57%) больной – в желудочно-кишечном тракте, у 1 (3,57%) больного выявлен метастаз меланомы, у 1 (3,57%) пациента – метастаз саркомы, в 15 (53,58%) случаях первичный очаг при дообследовании выявлен не был. По количеству метастазов, диагностированных при обследовании и удаленных при оперативном вмешательстве, больные распределялись следующим образом: у 24 (85,72%) был диагностирован 1 метастаз в большие полушария головного мозга, у 2 (7,14%) – 2 метастатических узла, у 1 (3,57%) – 4, у 1 (3,57%) больной обнаружено 5 метастазов.

Из 369 больных мужчин было 179 (48,51%), женщин – 190 (51,49%). Полученные нами данные зависимости между полом, возрастом и заболеваемостью разными по гистологической степени ЗОГМ соответствуют средним данным по разным регионам России (Можейко Р.А., 2004; Алексеев А.Г., 2005; Горенштейн А.Е., 2009).

217 пациентам с ОГМ проведено сопоставление результатов гистологического исследования и данных ИК спектроскопии крови, из них 167 больным в основной группе. Кроме основной группы, дополнительно 50 больным с доброкачественными и злокачественными ОГМ с целью определения диагностической эффективности ИКС сыворотки крови выполнено сопоставление результатов гистологического исследования и данных МРТ с контрастным усилением. 43 пациентам проводили ИК спектроскопическое исследование в динамике: в до и в послеоперационном периоде. Группа контроля состояла из 28 здоровых добровольцев в возрасте 18-23 лет. Выполнено 765 исследований

сыворотки крови с помощью ИКС. Количество обследований у каждого больного, в зависимости от задачи исследования составило от 1 до 28. При каждом исследовании изучалось от 2 до 13 высот пиков поглощения.

Среди 167 пациентов со ЗОГМ, которым проведено сопоставление результатов гистологического обследования и данных ИК спектроскопии крови, с глиобластомой было 81 (48,5%) больных, астроцитомы (Grade II-III) – у 40 (23,9%), невриномы – у 13 (7,8%), менингиомы – у 12 (7,2%), эпендимомы – у 11 (6,6%), олигодендроастроцитомы – у 10 (6,0%). Выполнено 665 исследований сыворотки крови.

Исследование осуществляли в области $1200-1000\text{ см}^{-1}$. Метод позволяет выявить весь спектр веществ сыворотки крови, содержащих простые и сложно эфирные связи C-O, C-OO, C-O-H, СОС, Р-О и Р-ОО - фосфор-кислород и углерод-кислород связи к которым относятся все липиды, фосфорилированные белки, углеводы, креатинфосфокиназа и другие соединения (Krishna С. М., et al., 2005). В настоящее время известно какие вещества соответствуют определенной длине волны ИК спектра (Meade A. D., et al. 2007; Baker M.J., et al., 2008; Movasaghi Z., et al. 2008; Bellisola G., et al. 2012; Hands J.R., et al. 2013) (таблица 4).

Таблица 4. – Области поглощения в середине ИК спектра электромагнитных волн некоторыми функциональными группами в молекулах

Длина волны (см^{-1})	Соединение, молекула
1050	C-O-P – РНК, фосфорные эфиры аденозинов;
1065	цепь C-C;
1070	RO-PO ₂ -OR, CO-O-C– фосфолипиды, фосфорилированный протеин;
1160	PO ₂ ⁻ нуклеиновая кислота
1150	C-O-H углеводы
1160	C-O - РНК рибоза
1170	R-COO-R – эфир, липиды
1200	C-C цепь, C-H изгиб - белок
1080	PO ₂ ⁻ нуклеиновая кислота, фосфолипиды.
1025	-CH ₂ OH углеводы (включая глюкозу, фруктозу, гликоген и т.д.)
1040	симметричная связь PO-2 РНК и ДНК
1050	C-O изгиб C-OH углеводы (гликоген)
1125	CH _{2,6} , CC кольцо полисахариды, целлюлоза
1100	фосфат и олигосахариды

На наличие цитомегаловируса (ЦМВ) и герпесвируса (ГВ) I, II типов обследованы 22 опухоли. Обнаружение ЦМВ и ГВ в тканях опухолей проводили методом ПЦР с использованием коммерческой тест-системы «Амили Сенс HCV/CMV мультипрайм – Fl» производства ФБУН «ЦНИИЭ» на амплификаторе «Rotor Gene».

Изучение состояния про-антиоксидантного статуса организма проводилось путем исследования крови в до и послеоперационном периоде на 3; 7-10; 20-30 дни. Исследовали ПОЛ, антиоксидантную активность (АОА), перекисную резистентность эритроцитов (ПРЭ); уровня эндотоксикоза по Габриэлян-среднемолекулярные пептиды Е 254, Е 280, миоглобин, калий и натрий сывороточный.

12 больным проводилось иммунологическое обследование: оценка сывороточного содержания растворимых форм мембранных белков клеток иммунной системы (молекулы гистосовместимости HLA I и HLA II класса; молекулы адгезии CD18, Mac-1, CD54, CD50; CD95-белок, участвующий в передаче сигналов апоптоза; показатели активации – белки CD25, CD38).

В послеоперационном периоде получали только лучевую терапию 116 (31,44%) больных, из них 22 (26,19%) получили 60 Гр. 68 (18,43%) пациентам проводилась лучевая и химиотерапия, 97 (26,29%) проводилась химиотерапия. Из них 28 (28,87%) больных получили лечение препаратом темодал. Полихимиотерапия проводилась с использованием следующих препаратов: карбоплатин, этопозид, винкристин, ломустином, натулан. Применялись следующие схемы полихимиотерапии: PCV по стандартной схеме и винкристин с ломустином по следующей схеме: в 1й день винкристин 1,5 мг/м² и 160-100 мг ломустина разово, на 8й день повторно 1,5 мг/м² винкристина.

Для оперативных вмешательств с применением метода ФДТ отбирались преимущественно больные с рецидивами ЗОГМ. С применением метода ФДТ оперировано 37 (10,03%) больных. По поводу продолженного роста опухоли оперировано повторно с применением ФДТ 11 (29,73%) больных. Первично, с применением метода ФДТ оперировано 26 (70,27%).

40 (10,87%) больных получили иммунотерапию, из них 29 (7,86%) проведена специфическая иммунотерапия (СИ) на основе аутологичных ДК, 11 больным (2,98%) – неспецифическая иммунотерапия реафероном, неовиром.

Итого, противоопухолевую терапию получили в послеоперационном периоде 185 (50,14%) больных. До 2005 года противоопухолевое лечение получило 27 пациентов, что составляет 7,32%. С 2005 года комплексное лечение прошла основная группа больных – 158, что составляет 42,82% от общего количества больных.

Метод ФДТ и СИ при лечении опухолей головного мозга применяется в ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России с августа 2011 г. по решению этического комитета от 24.10.2011 за № 7 и Ученого Совета института от 25.10.2011 за № 8. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. (Хельсинки, Финляндия), пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия). От каждого пациента получено информированное согласие.

Диагноз и гистологический характер опухолей верифицирован в послеоперационном периоде всем больным при морфологическом исследовании и уточнялся при необходимости иммуногистохимическим методом.

Гистологическое исследование проводили после предварительной фиксации материала в растворе нейтрального формалина. Стандартная гистологическая проводка осуществлялась на аппарате «Excelsior ES» (Thermo Scientific). После проводки изготавливались парафиновые блоки с использованием заливочной станции «Histo Star» (Thermo Scientific). Серийные срезы толщиной 4-6 микрон получали на микротоме «Microm HM 325» (Thermo Scientific). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в монтирующую среду. Микроскопирование и фотодокументирование проводились с использованием морфометрического комплекса «Leica DMR». Приготовление полутонких срезов толщиной 1 микрон из полимеризованных эпоновых блоков проводили на ультрамикротоме Power Tome PC (RMC Products). Образцы ткани предварительно фиксировались по стандартной методике в 2.5%-ом глутаровом альдегиде на фосфатном буфере с последующей дофиксацией четырехокисью

осмия, проводкой и заключением в эпоксидную смолу. Полихромное окрашивание полутонких срезов метиленовым синим - азуром II - основным фуксином, контрастно выделяющее цитологические детали, проводили в соответствии с рекомендациями Humphrey с соавторами (1974) после предварительного удаления смолы.

2.2 Экспериментальные исследования

Задачами экспериментальной части исследований являлись

1. Выявить возможность повышения проницаемости ГЭБ путем интракаротидного введения ОФР (изобретение № 2391107).
2. Оценить эффективность модификации химиотерапии этопозидом с применением интракаротидного введения ОФР, препаратов терафтал, фотосенс (изобретение № 2418587).

При проведении экспериментов исследования проводились с соблюдением правил обращения с животными согласно Приказу МЗ и СР РФ № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики».

2.2.1 Исследование возможности повышения проницаемости ГЭБ

Исследование повышения проницаемости ГЭБ путем интракаротидного введения ОФР проведено на половозрелых крысах линии Wistar (n=20) массой тела 320 ± 10 г. Выполнено 3 серии экспериментов, в которых изучалась ультраструктура неокортекса животных. В I серии (контроль) вводился физиологический раствор (ФР), во II серии ОФР с концентрацией озона – 0,7 мг/л. В III серии вводили ОФР с концентрацией 1,5 мг/л. Барботаж официального 0,9% физиологического раствора озоном длительностью 40 минут осуществлялся прибором «Квазар». Концентрацию растворенного озона в физиологическом растворе определяли с помощью анализатора озона в жидких средах ИКОЖ-5. ОФР через катетер вводился в общую сонную артерию со скоростью 1 мл/мин в объеме 1 мл на 300 г массы животного под внутрибрюшинным нембуталовым наркозом (35 мг/кг). Контроль глубины наркоза осуществлялся по отсутствию

корнеальных рефлексов. После инфузии сонная артерия перевязывалась. Эвтаназия осуществлялась одномоментной декапитацией животного в условиях нембуталового наркоза (70 мг/кг).

Морфологические исследования проводили через 15 минут, через 1, 14 и 30 суток после введения ОФР. Для этого иссекали ткань префронтальной коры головного мозга крыс (поля Fr1 и Fr2 по атласу Paxinos G., Watson C., 1997) на стороне введения ОФР либо ФР. Методом оценки состояния ГЭБ при введении растворов выбрана трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Подготовка препаратов проводилась по стандартной методике: фиксация в 2,5% растворе глутарового альдегида и 1% растворе осмиевой кислоты. Заливка осуществлялась в смеси эпоксидных смол аралдита и эпона 812. Ультратонкие срезы готовились на ультратоме Ultracut фирмы Reichert-jung и просматривались на ТЭМ Morgagni 268D фирмы FEI. Морфометрию выполняли с помощью программы AnalySIS. Анализ проницаемости ГЭБ оценивали по состоянию астроглии, базальной мембраны и межэндотелиальных контактов эндотелия капилляров (Боголепов Н.Н., 1979; Бредбери М., 1983; Свадовский А.И., 1999; Чехонин В.П. и соавт., 2012; Maurya S.K., 2014; Rodrigues S.F. et al., 2015).

Для световой микроскопии образцы ткани мозга фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм изготавливали на микротоме Leica SM 2000R и окрашивали гематоксилином и эозином (обзорная окраска) и по Нисслю для выявления специфичного для нейронов нуклеопро-теидного комплекса (тигроида), содержащегося в цитосыворотке, а также других комплексов РНК и основных белков (ядрышко, хроматин ядра).

2.2.2 Модификация химиотерапии в условиях in vitro

Экспериментальная часть исследований по изучению возможности модификации химиотерапии ЗОГМ выполнена в условиях in vitro и in vivo.

Для экспериментальных исследований штамм опухоли 101.8 получен в институте морфологии человека РАМН. Москва. Гистологически опухоль 101,8

соответствует глиобластому, в которой одновременной малигнизации подвергаются астроцитарная глия, олигодендроциты и эпендима в различных соотношениях, способна к серийной трансплантации, имеет высокую (90-100%) степень прививаемости (Халанский А.С. и соавт., 1995). Эта опухоль способна к периферическому росту и культивированию вне организма.

В условиях *invitro* изучалась возможность усиления противоопухолевого действия химиопрепаратов: этопозид, цисплатина, винкристин при лечении экспериментальной модели глиальной опухоли 101.8 путем стимуляции прооксидантных процессов. Изучали возможность использования ПВ, как источника свободно-радикальных соединений и кислорода в качестве модификатора химиотерапии. Было проведено четыре серии исследований, по три исследования в каждой серии. Исследовали противоопухолевую эффективность препаратов в монотерапии: ПВ; этопозид; и в комбинации: ПВ + этопозид; контрольная серия. Изучали также возможность использования ОФР, фотосенс (Фс) и терафтал (Тф) в качестве модификаторов химиотерапии. Проведено 11 серий исследований по 3 исследования в каждой серии. Вначале изучали эффективность препаратов в монотерапии: ОФР; Тф; Фс; Эт. Затем комбинации препаратов: ОФР + Тф; ОФР + Фс; ОФР + Эт; Тф + Эт; Фс + Эт; ОФР + Тф + Эт; ОФР + Фс + Эт. Всего выполнено 45 опытов.

В работе использовали метод диссоциированных культур, разработанный для нервной ткани (Викторов И.В., 1988) и адаптированный для опухолевых клеток (Розуменко В.Д. и соавт., 2001). Забор опухолевой ткани осуществляли от крысы с перерезанной опухолью в стерильных условиях. Ткань опухоли измельчали на мелкие фрагменты (1-2 мм³), инкубировали в солевом растворе, свободном от ионов кальция и магния (CMF) в течение 15-25 мин при комнатной температуре, а затем диссоциировали механически многократным всасыванием пастеровской пипеткой (Божкова В.П. и соавт., 1988). Полученную клеточную суспензию дважды центрифугировали. Опухолевые клетки в количестве 2×10^6 наносили на покровные стекла, предварительно покрытые спиртовым раствором полиэтиленимина, которые помещали в пластиковые чашки Петри (D = 3 см) Для

культивирования использовали питательную смесь, состоящую из среды Игла, раствора Хэнкса, 40,0% эмбриональной телячьей сыворотки, глюкозы (800 мг%) и инсулина (0,2 ЕД/мл). Объем питательной среды в чашках Петри составил 2 мл. Культуры содержали в CO₂ - инкубаторе при температуре 36,6° С поддержанием постоянного газового состава (5% CO₂). Наблюдение роста культур проводили в динамике прижизненно под инвертированным микроскопом Биолан П-3 (ЛОМО, Санкт Петербург) с микрофотографической регистрацией. В опыт отбирались культуры с относительно равномерной зоной роста, которая формировалась к 48 часам.

Через 48 часов с момента начала культивирования, когда формировались обширные зоны роста, в опухолевые культуры добавляли изучаемые препараты в следующих дозировках: 3% ПВ – 1/20 мл ($0,05 \pm 0,01$ мл); 50 мг этопозида растворяли в 200 мл физ. раствора, применяли 1/20 мл ($0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025$); 50 г Тф растворяли в 200 мл физ. раствора, также применяли 1/20 мл ($0,0125 \text{ г} \pm 0,0025$); 100 мг Фс растворяли в 200 мл физ. раствора, использовали 1/20 мл ($0,025 \text{ мг} \pm 0,005$); ОФР 7 мг/л – 1/20 мл ($0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007$). ОФР получали путем барботажа официального 0,9% физиологического раствора озоном на протяжении 40 мин на приборе «Квазар». Концентрацию растворенного озона в физиологическом растворе определяли с помощью анализатора озона в жидких средах ИКОЖ-5.

При исследовании эффективности комбинированной терапии применялись те же дозы препаратов.

Культуры с препаратами инкубировали на протяжении 24 часов, после чего их фиксировали в 10,0% растворе нейтрального формалина и окрашивали гематоксиллином Карачи. В каждом из опытов, в 10-15 полях зрения светового микроскопа, при увеличении (x200, x400 и x800) анализировали общую структуру роста, оценивали морфологические характеристики клеток, подсчитывали среднюю плотность их распределения, долю поврежденных клеток с учетом общепринятых морфологических признаков цитотоксичности. Все морфометрические исследования проводили с помощью цитоанализатора изображения «IBAS-2000» ФРГ с фоторегистацией.

После инкубации с препаратами на протяжении 24 часов культуры фиксировали в 10% нейтральном формалине и окрашивали гематоксилин–эозином. В сравнении с контролем в исследуемых культурах оценивали изменения общей архитектоники роста и митотической активности, а также цитодеструктивные изменения.

2.2.3 Полихимиосенсибилизация в условиях *in vivo*

С целью определения эффективности интракаротидной химиотерапии ЗОГМ путем повышения проницаемости ГЭБ, оксигенации опухоли и стимуляции прооксидантных процессов в ней на фоне применения химиосенсибилизаторов ТФ и Фс, в условиях *in vivo* проведено исследование на модели перевиваемой злокачественной опухоли головного мозга штамма 101.8 у крыс. Перевивка опухоли выполнялась беспородным белым крысам самцам массой $350 \pm 10,5$ г. Обезболивание осуществлялось путем внутривентрального введения нембутала из расчета 35 мг/кг. Проведено 9 серий исследований по 5 животных в каждой, всего 45 животных

Забор опухолевой ткани для трансплантации осуществляли от крысы-опухоленостеля с клиническими проявлениями заболевания в стерильных условиях следующим образом. После усыпления животного нембуталом в дозе 70 мг/кг выполнялась одномоментная декапитация, мозг извлекался. Опухолевой тканью наполняли троакар диаметром 1 мм на глубину 3-4 мм от края, что в среднем составляло примерно $3-5 \times 10^6$ клеток (Халанский А.С. и соавт., 1995).

Трансплантация опухоли выполнялась с использованием бинокулярной лупы с осветителем, обеспечивающей 3,2 кратное увеличение. Это позволяло свести к минимуму риск повреждения сосудов, твердой мозговой оболочки и подлежащего мозга. Под нембуталовым наркозом (35 мг/кг) животные фиксировались на операционном столе. После выбривания теменного участка кожи на голове выполняли разрез мягких тканей. Отступя от сагиттального шва на 3 мм, справа, накладывали сверлом отверстие, диаметром 2 мм. Особое внимание на этом этапе операции переходу в эпидуральное пространство,

поскольку большой шаг резьбы на сверле может привести к внезапному «проваливанию» сверла в полость черепа, и повреждению подлежащей ткани мозга. Вскрытие ТМО осуществляли с помощью обычной инъекционной иглы, диаметром 0,8 мм. Опухоль имплантировали в ткань мозга с помощью троакара, диаметром 1,8 мм, который вводили через фрезевое отверстие в ткань мозга на глубину 3 мм. Рану под кожей засыпали 0,25 г левомицетина. На кожу накладывали швы.

На третьи сутки после перевивки под нембуталовым наркозом в стерильных условиях выполняли линейный разрез мягких тканей по передней поверхности шеи справа от средней линии на 0,5 см. Тупым путем выделяли общую сонную артерию, которая бралась на 2 лигатуры. В просвет артерии вводили катетер диаметром 0,7 мм, через который и осуществляли введение препаратов. В зависимости от групп исследования интракаротидно вводили изолированно или последовательно ОФР в дозе озона 0,14 мг/кг, Фс в дозе 0,8 мг/кг веса больного животного или Тф в дозе 3 мг/кг веса больного животного, Эт при монотерапии в дозе 40 мг/м² площади тела больного животного, при его комбинации с другими препаратами в дозе 13 мг/м². Интракаротидное введение препаратов животным осуществляли со скоростью 1 мл/мин. После окончания введения катетер извлекали и артерию перевязывали. Анатомические особенности артериального кровоснабжения у крыс позволяют выполнять перевязку сонной артерии без риска возникновения ишемии.

Для определения эффективности полихимиосенсибилизации провели исследования в девяти группах экспериментальных животных с перевитой глиомой 101.8. Препараты вводились изолированно при использовании одного препарата или последовательно при использовании нескольких препаратов. При комбинированном введении первым всегда вводился ОФР.

Первая группа животных – контрольная. Во второй группе животных оценивали эффективность монотерапии химиопрепаратом Эт, в дозах, которые применяются в клинике при лечении ЗОГМ. Препарат вводили в дозе 40 мг/м² площади тела животного. Третьей группе животных вводили интракаротидно Тф

в дозе 3 мг/кг веса больного животного. Четвертой группе животных вводили последовательно ОФР в дозе 0,8 мг/кг на килограмм веса больного животного и Эт в дозе 13 мг/м² площади тела больного животного. Пятой группе животных вводили интракаротидно последовательно: Тф в дозе 3 мг/кг веса больного животного и затем Эт в дозе 13 мг/м² площади тела больного животного. Шестой группе животных вводили Фс в дозе 0,8 мг/кг веса больного животного и Эт 13 мг/м² площади тела больного животного. В седьмой группе исследовали противоопухолевую эффективность комбинации ОФР в дозе 0,8 мг/кг веса больного животного и Фс в дозе 0,8 мг/кг веса больного животного, вводимых также последовательно. Восьмая группа животных была пролечена путем последовательного введения ОФР в дозе 0,8 мг/кг веса больного животного, Фс в дозе до 0,8 мг/кг веса больного животного и Эт в дозе 13 мг/м² площади тела больного животного. Девятая группа животных была пролечена путем последовательного введения ОФР в дозе 0,8 мг/кг веса животного, Тф в дозе до 3 мг на килограмм веса животного и Эт в дозе до 13 мг/м² площади тела животного.

У больных животных, пролеченных предлагаемым методом в указанных дозировках, осложнений не наблюдалось.

2.3 Методы исследований

При поступлении в отделение всем больным проводилось клиническое обследование, которое включало сбор анамнеза, стандартный клиничко-неврологический осмотр, консультация отоневролога выполнена 247 (60,84%) больным, консультация окулиста – 378 (85,72%), ЭЭГ-обследование выполнено 143 (35,22%) больным. Полученные данные фиксировали в историях болезни или амбулаторных картах, а также заносили в карты обследования больных опухолями головного мозга, которые включали 52 учетных признака, отражающих анкетные данные, сведения о неврологическом статусе, проведенном оперативном вмешательстве, о лечении в послеоперационном периоде и его результатах. Уровень качества жизни оценивали по шкале Karnofsky, и шкале ECOG (аббревиатура от Eastern Cooperative Oncology Group), позволяющей оценить как выраженность

неврологических нарушений, так и уровень социальной адаптации пациента [Oken M.M., 1982].

2.3.1 Нейровизуализационные методы обследований

С целью уточнения локализации опухоли, ее распространенности, взаимоотношения с окружающими структурами, предположения о характере новообразования, было выполнено 255 (62,81%) КТ исследований на томографе Toshiba Aquilion 32. Проводилось стандартное КТ обследование с возможностью мультипланарной реконструкции и 3D реконструкции. 217 больным выполнены МРТ исследования на томографе «Siemens» Германия, «Magnetom – Symphony» 1,5 Тс. МР - обследование включало стандартное исследование головного мозга с получением T2 взвешенных изображений в аксиальной и коронарной проекциях, T1 взвешенных изображений в аксиальной и сагиттальной проекциях. 108 больным выполнялось и КТ и МРТ обследования. 106 (26,11%) больным в 1-5е сутки послеоперационного периода выполнялись контрольные МРТ или КТ исследования.

С целью определения характера и степени злокачественности патологического процесса в тех случаях, когда сигнальные характеристики и нейровизуализационные особенности выявленного очага были неспецифичны, на дооперационном этапе выполнена ПМРС -функциональная методика, основана на оценке содержания в полученных спектрах основных метаболитов.

ПМРС проводились на магнитно-резонансном томографе производства "Siemens" Германия, «Magnetom – Symphony» 1,5Т с использованием программного пакета SpectroscopyEvaluation и головной катушки. МР-обследование включало стандартные исследования головного мозга с получением T2 и T1 взвешенных изображений в аксиальной и сагиттальной проекциях и T2 Flair в аксиальной проекции, а также диффузионно-взвешенных изображений с факторами диффузии $b=0$, $b=500$, $b=1000$ с последующим ADC картированием. Затем на основе полученных изображений выделялась зона интереса для 2d-мультивоксельной спектроскопии. На прицельном изображении в аксиальной

проекции устанавливалась квадратная рамка размерами 8 x 8 см, после чего проводилась предварительная настройка томографа в виде шиммирования и подавления сигнала от протонов молекул воды. Шиммирование проводилось как в автоматическом режиме, так и в ручном варианте. Для получения графических спектров и параметрических карт распределения метаболитов, а также их соотношений применялась импульсная последовательность SE, для чего запускался протокол `csi_se 30`, или `csi_se 135` с дальнейшей постпроцессинговой обработкой. Из полученных результатов фиксировались графические изображения спектров в каждом вокселе установленной рамки и карты распределения метаболитов: Cho, NAA, Lac, Cr, Glx, Ins, а также карты соотношений метаболитов: Cho/Cr, Cho/NAA и Lac/Cr. Для оценки степени злокачественности глиом использовались индексы Cho/Cr и Cho/NAA. Целесообразность их применения обусловлена значимым различием в уровнях Cho в спектрах глиом высокой и низкой степени анаплазии [KimJ. et al., 2006; Karatağ O. et al., 2010]. Обязательно оценивался также уровень Lac, высота которого растёт с увеличением злокачественности глиомы [Law M. et al., 2003]. Оценивался также метаболизм в перитуморальной зоне по высоте пиков Cho, NAA и индекса Cho/Cr для дифференциальной диагностики глиом и метастазов (Law M. et al., 2002).

С применением ПМРС обследование выполнено 38 больным в возрасте от 25 до 64 лет. Из них у 34 обследованных больных были выявлены глиомы головного мозга, у 3 – метастазы в головной мозг, у 1 – лимфома. ПЭТ-КТ с метионином выполнено 29 больным ЗОГМ. Из них больных с опухолями Grade IV-III – 22.

2.3.2 Применяемое оборудование при удалении опухолей

Хирургические вмешательства выполнялись с использованием операционных микроскопов Pentero, Vario 700, ультразвуковой установки УЗХ-9301-ОХ-МЕДЭЛ, лазерного аппарата Латус-Т (ООО «Аткус») с длиной волны 662 нм., навигационных установок StealthStationTreonPlus и StealthStationS7. В

ФГБУ ННИИТО Минздравсоцразвития России, по решению этического комитета от 24.10.2011 за № 7 и Ученого Совета института от 25.10.2011 за № 8, с августа 2011г. применяется метод ФДТ и СИ на основе аутологичных ДК в комплексном лечении больных ЗОГМ.

При выполнении ФДТ нами применялся отечественный фотосенсибилизатор группы хлоринов – фотодитазин (ООО «Вета-Гранд»), который вводился внутривенно капельно в дозе 0.8-1,2 мг/кг за 2-3 часа до облучения ложа удалённой опухоли. Период его практически 100% выведения составляет 24 часа. Использование фотодитазина в качестве фотосенсибилизатора позволило избежать побочных эффектов, свойственных фотосенсибилизаторам первого поколения, связанных с их длительным периодом полувыведения, световой фототоксичностью. Для облучения использовался отечественный лазер Латус-Т (ООО «Аткус») с длиной волны 662 нм. После удаления опухоли облучение ложа проводилось сканирующими движениями с параметрами излучения – мощность 2 Вт, расчётная плотность энергии 180-200 Дж/см². В зависимости от размеров ложа опухоли среднее время экспозиции составило 24мин (4-34). После удаления опухоли, для облучения поверхностно расположенных зон, применялся световод с плоским торцом для наружного облучения, для облучения глубоких полостей использовался магистральный световод с насадками. Облучение ложа проводили сканирующими движениями.

Длительность светового воздействия при ФДТ рассчитывали, исходя из эмпирически подобранной эффективной дозы световой энергии (Е) - 180 Дж/см². Решающим параметром фотодинамического воздействия является плотность мощности излучения (Ps), измеряемая в Вт/см². Плотность мощности рассчитывали путем деления величины мощности на выходе световода Pв (Вт), определяемой дозиметром, на площадь поля облучения, то есть светового пятна S (см²): $P_s = P_v / S$.

Длительность облучения определяли по формуле: $T = E / P_s$, где T — время светового воздействия (с); E – требуемая плотность энергии (Дж/см²); Ps – плотность мощности (Вт/см²).

При облучении плоских поверхностей, образующихся после удаления поверхностно расположенных опухолей, расчет времени облучения не представляет трудностей.

Стенки ложа, образующегося после удаления глубинно расположенных опухолей, обычно неправильной формы, напоминающие чаще всего по форме полусферу. В таких случаях проводили расчет времени облучения в минутах по следующей формуле: $T = 4\pi R^2 / 2 \times E / P_v / 60$, где R – радиус ложа, образующегося после удаления опухоли; $4\pi R^2 / 2$ – площадь ложа опухоли (полусферы). Применяли следующие параметры излучения: мощность 2- 2,5 Вт, расчётная плотность энергии 180-200 Дж/см². Для облегчения расчетов времени облучения существуют специально рассчитанные таблицы плотности мощности в зависимости от выходной мощности на конце световода и размеров светового пятна.

Для интраоперационной топической диагностики, оценки функциональных резервов микроциркуляции мозга в окружающих опухоль зонах мы применяли метод тепловидения.

Итраоперационную диагностику опухолей и оценку термического эффекта ФДТ осуществляли непрерывно с помощью тепловизионной (ТВ) камеры Thermo Tracer TH-9100 (NEC, Япония), работающей в спектральном диапазоне 8-14 мкм, обладающей чувствительностью 0,025-0,03°C при погрешности $\pm 1\%$ и разрешением ИК матрицы 320x240 пикселей.

Тепловизионная камера на штативе фиксировалась над операционной раной на расстоянии 15-20 см от ее поверхности с соблюдением перпендикулярности потока ИК излучения от объекта обследования по отношению к оптике тепловизионной камеры (рисунок 1).

Исследование начинали с изучения распределения тепловых полей кожных покровов в проекции операционного доступа. После резекции кости ТВ исследования проводили с ТМО. После ее вскрытия с доступных участков коры головного мозга, на этапах удаления опухоли и в конце оперативного вмешательства.



Рисунок 1. – Интраоперационное тепловизионное обследование ТМО больного

Длительность однократного измерения на этапах исследования составляла 1 минуту. Применение покадровой регистрации ТВ картины или мониторинг в реальном режиме времени зависел от задачи исследования.

При исследовании глубокой операционной раны, для преодоления «кюветного эффекта», включали режим двукратного увеличения фрагмента изображения, чем достигалось условное «отсечение» краев раны за счет уменьшения поля обзора.

На термокартах, зарегистрированных с ТМО и с открытого участка коры на всех этапах оперативного вмешательства, выбирали для оценки и сравнения области, соответствующие очагу, перифокальной зоне, и расположенному за ней неизмененному участку коры.

Для термографии перифокальной зоны в пределах трепанационного окна выбирали участок коры вокруг опухоли. Если опухоль не выходила на поверхность коры, идентификацию перифокальной зоны производили с учетом данных интраоперационной навигации или по визуальным изменениям коры в проекции опухоли.

Для функциональной оценки микрососудистого русла и изучения локальных резервов температурной регуляции микроциркуляции мы использовали холодовую пробу. Исследование проводилось по следующей методике: после выполнения трепанации черепа и вскрытия ТМО регистрируется

исходная тепловая картина доступной исследованию области коры головного мозга. Затем проводили равномерное орошение коры в пределах трепанационного окна холодным ($18 \pm 0,5^\circ\text{C}$) стерильным физраствором из двух резиновых баллонов на протяжении 40 сек. Это вызывает снижение температуры коры на $2,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$, что не превышает допустимое, не вызывающее необратимых сдвигов метаболизма, охлаждение мозга на уровне коры ($30-29^\circ\text{C}$). После аспирации воды для сглаживания артефактных температурных возмущений, через 3 сек производили регистрацию динамики тепловой картины в исследуемой области в режиме непрерывного мониторингирования на протяжении 1 мин с фиксацией данных каждые 13 с (минимальное время записи данных в память прибора). Для определения резерва микроциркуляции перифокальной зоны из этих данных использовались три измерения: перед холодной пробой (нативная термокарта), сразу после нее и через 1 минуту после пробы. По разности температурных данных между двумя последними измерениями оценивали скорость восстановления температуры коры мозга, отражающую степень реактивности сосудов микроциркуляторного русла, или сохранность их ауторегуляции. Тепловизионное исследование проводили без освещения операционного поля бестеневыми лампами.

В ходе операций исследована пространственная динамика ИК полей ТМО и открытого участка коры у 32 больных с опухолями головного мозга супратенториальной локализации. Из них 2 больных с астроцитомами Grade I-II, 7 – с астроцитомами Grade III, 20 – с глиобластомами Grade IV и 3 пациента – с метастатическим поражением головного мозга.

2.3.3 Методика проведения специфической иммунотерапии

Специфическую иммунотерапию проводили путем введения вакцин, приготовленных на основе аутологичных дендритных клеток.

Во время хирургической операции забирали фрагмент опухоли не менее 3 см³, содержащий живые опухолевые клетки и по возможности не содержащий нормальные и некротизированные ткани. Фрагмент опухоли помещали в стерильный раствор и передавали для изготовления антигенного материала в

течение 1 суток. Для приготовления антигена фрагмент опухоли облучали в дозе 200 Гр, диссоциировали на клетки. Полученные опухолевые клетки отмывали и разрушали путем повышения кислотности среды, в которой находятся клетки до Ph 11,5, с последующим понижением Ph до 6,5. Полученный из них экстракт белков использовали как антиген для предоставления ДК. Перед каждым курсом лечения производили забор 40-60 мл периферической крови больного из кубитальной вены в шприц, содержащий раствор гепарина. Конечная концентрация гепарина 30 единиц на 1 мл. Кровь поступала на обработку не позднее 16 часов после забора. Из взятой крови выделяли моноциты, которые культивировали в течение 7 дней с ростовыми факторами (гранулоцит-макрофаг колониестимулирующий фактор и интерлейкин-4 в количестве 1000 ед/мл) с постоянным контролем и сменой среды. На 6 день к дендритным клеткам добавляли приготовленный из опухоли данного больного антигенный материал и в этот же день антигенный материал вводили внутрь полученных дендритных клеток с помощью электрического разряда (электропорация).

СИ применяли через 2 недели после оперативного вмешательства. Введение вакцины на основе аутологичных ДК осуществлялось 1 раз в неделю внутривенно в 8-10 точек в область медиальной поверхности края лопаток и по границе роста волос на задней поверхности шеи. За один курс выполняли 3-4 введения. Перерыв между курсами СИ был 1,5-2 мес.

2.3.4 Методика проведения ИКС исследований

С целью прогнозирования гистологического характера опухолей на дооперационном этапе и с целью ранней диагностики рецидивов опухолей нами использована ИКС сыворотки крови (изобретения № 2350953; 2463598, открытие № 470).

Инфракрасную спектроскопию применяли для исследования биологических макромолекул в высушенной сыворотке крови больных. Методика получения материала для исследования заключалась в следующем. Утром, натощак, до приема медикаментов, из кубитальной вены забирали 5 мл крови без создания большого разрежения с целью предупреждения гемолиза. Затем кровь

центрифугировали с частотой 1000 об/мин в течении 15 мин. Отделенную сыворотку в количестве 1,0 мл выливали в чашку Петри и высушивали в сухожаровом шкафу при температуре 25°C на протяжении 24 часов. Сухой остаток сыворотки помещали в чистую стеклянную емкость, закупоривали и нумеровали. Таким образом, материал был готов к длительному хранению и транспортировке.

Используемый способ подготовки сыворотки крови к ИКС обеспечивает длительную консервацию и транспортировку исследуемого субстрата без влияния на результат исследования на протяжении 2 месяцев [Петрова И.А., 2012]. Метод ИКС может быть выполнен при наличии минимального количества сухой сыворотки – до 0,1г. Один и тот же образец высушенной крови можно использовать для съемки ИК спектра только однократно.

Принцип метода заключается в поглощении сухой плазмой крови электромагнитных волн в инфракрасном диапазоне и регистрации спектра поглощения. Непосредственно перед исследованием сухой остаток сыворотки помещали в агатовую ступку, тщательно перетирали до состояния пудры, затем добавляли 1-2 капли вазелинового масла, после чего выполняли ИКС анализ образцов вещества (тонкий слой между крышками из бромиды калия). Все эффекты, обусловленные указанными наполнителями, компенсируются на современных двухлучевых приборах.

Для исследования мы использовали спектрофотометр Specord 75 IR. ИК-спектрофотометр (Specord 75 IR) обеспечивает фотометрическую точность 99,8%. Контрольная программа, встроенного в спектрофотометр компьютера не допускает неправильных и несовместимых параметров, обеспечивая объективность и высокую точность спектрометрических анализов. Спектрофотометр автоматически регистрирует инфракрасные спектры пропускания исследуемых проб в диапазоне волновых чисел 4000 - 400 см⁻¹. В этом спектральном диапазоне лежат полосы поглощения почти всех функциональных групп органических молекул. На основании полученных спектров возможны как идентификация, так и анализ структур веществ. В

спектрофотометре инфракрасное излучение расщепляется на два луча, один из которых проходит через исследуемый объект, а второй используется в качестве сравнения. ИКС является наиболее эффективным методом для качественного анализа в органической химии. Наличие той или иной функциональной группы в молекуле всегда сопровождается появлением в ее ИК спектре одной или нескольких полос поглощения, что позволяет идентифицировать этой группы. В области $1400 - 700 \text{ см}^{-1}$ ИК спектры многих органических молекул очень сложные. Эту область используют для идентификации веществ, если их ИК спектры полностью совпадают во всех деталях. Поэтому этот участок спектра органических веществ (в том числе, входящих и в состав биологических жидкостей и тканей) называют дактилоскопической «fingerprint» (отпечатки пальцев) (Коста А.Н., 1965; Krafft С., 2006).

Процентные коэффициенты пропускания проб определяются двухлучевым способом по принципу оптического дифференцирования. Зеркальный модулятор с вращающимся секторным диском попеременно направляет оба исходящих из общего источника пучка лучей после их прохождения через исследуемую и эталонную пробы во входную щель монохроматора. Выделенный компонент модулированного таким образом излучения падает на приемный термоэлемент, на который проецируется выходная щель монохроматора. Приемник излучения дает пропорциональные интенсивностям монохроматических компонентов, прошедших через обе пробы пучков, чередующиеся сигналы. Когда интенсивности этих компонентов равны между собой, общий электрический сигнал будет постоянен. В момент нарушения равенства интенсивностей вследствие разных поглощающих свойств обеих проб, на выходе приемника возникнет переменное напряжение. Оно управляет после соответствующего усиления, фазочувствительного выпрямления и дальнейшего преобразования серводвигателем так называемой измерительной диафрагмы, которая регулирует сечение пучка сравнения. Следящая система регулирования изменяет интенсивность этого проходящего через эталонную пробу пучка лучей настолько, чтобы она снова равнялась интенсивности пучка измерения. При изменении волнового числа выделяемого

монохроматического компонента излучения, отверстие измерительной диафрагмы графически описывает искомый спектр пропускания.

Исследование выполняли в дооперационном периоде, затем повторяли в динамике на 3-7 й день после операции, далее один раз в 2-3 недели в промежутках противоопухолевой терапии у больных с опухолями Grade III- IV. У больных с опухолями Grade I-II эти исследования повторно выполняли через 3 - 6 мес.

Инфракрасная спектроскопия сыворотки применялась с целью дифференциальной диагностики вида опухоли на дооперационном этапе (злокачественная - доброкачественная); уточнения гистологического характера опухоли; раннего выявления рецидивов опухолей в послеоперационном периоде и прогнозирования раннего рецидива глиобластом в дооперационном периоде. Интерпретацию полученных результатов осуществляли путем выявления корреляций между данными ИК спектроскопии сыворотки крови и результатами гистологического обследования, данными МРТ и КТ обследований больных.

Известно, что чем больше молекул исследуемого вещества находится на пути следования пучка света, тем больше вероятность, что квант света будет взаимодействовать с ними, поэтому, чем ниже концентрация вещества, тем менее интенсивные пики регистрируются при исследовании. Учитывая выше изложенное исследуют отношения пиков поглощения.

Известные на сегодня результаты применения ИКС в медицине открывают достаточно широкие перспективы в применении метода ИКС в нейроонкологии в плане ранней диагностики опухоли и определения эффективности проводимой терапии.

2.3.5 Биохимические и гистологические исследования

Активность процессов свободно-радикального окисления (СРО) и АОС изучали с помощью метода индуцированной сульфатом железа и перекисью водорода хемилюминесценции (Кузьмина, Е.И. т соавт., 1983) на биохемилюминометре БХЛ-06 (Н. Новгород). Исследовались следующие параметры хемилюминограммы: - $\text{tg } 2\alpha$ - показатель, характеризующий скорость спада процессов СРО в сыворотке и свидетельствующий об АОП; – светосумма

хемилюминесценции ($XL_{пл}$) в сыворотке крови, отражающая способность биологического объекта к СРО;- $XL_{эр}$. – светосумма хемилюминесценции в суспензии эритроцитов, обратно пропорциональная перекисной резистентности эритроцитов.

Для оценки баланса между про- и антиоксидантами сыворотки использовали расчетный коэффициент $XL_{пл}/АОП$.

Степень эндогенной интоксикации оценивалась методом Н.И. Габриэлян и А.А. Дмитриева [Габриэлян Н.И. и соавт., 1981] с помощью осаждения белков раствором трихлоруксусной кислоты и спектрофотометрической оценкой содержания молекулы средней массы (МСМ) в надосадочной жидкости при длинах волн 254 и 280 нм. Для количественной оценки МСМ использовали сумму полученных экстинций при $\lambda=254$ и $\lambda=282$.

Для гистологического исследования опухолевую ткань и перифокальную зону забирали с нескольких разных участков до и после проведения сеанса ФДТ. Исследование проводили после предварительной фиксации материала в растворе нейтрального формалина. Стандартная гистологическая проводка осуществлялась на аппарате «Excelsior ES» (Thermo Scientific). После проводки изготавливались парафиновые блоки с использованием заливочной станции «HistoStar» (Thermo Scientific). Серийные срезы толщиной 4-6 микрон получали на микротоме «MicromHM 325» (Thermo Scientific). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в монтирующую среду. Микроскопирование и фотодокументирование проводились с использованием морфометрического комплекса «Leica DMR». Приготовление полутонких срезов толщиной 1 микрон из полимеризованных эпоновых блоков проводили на ультрамикротоме PowerTome PC (RMC Products). Образцы ткани предварительно фиксировались по стандартной методике в 2.5%-ном глутаровом альдегиде на фосфатном буфере с последующей дофиксацией четырехокисью осмия, проводкой и заключением в эпоксидную смолу. Полихромное окрашивание полутонких срезов метиленовым синим - азуром II - основным фуксином, контрастно выделяющее цитологические детали, проводили в соответствии с рекомендациями Humphrey с соавторами (1974) после предварительного удаления смолы.

2.4 Статистическая обработка исследований

Статистическая обработка результатов выполнена на персональном компьютере при помощи пакета программ для статистической обработки данных STATISTICA 10. При анализе количественных данных проверяли соответствие выборок закону нормального распределения по критерию Колмогорова-Смирнова, Андерсона-Дарлинга и χ -квадрат. В случае, если гипотеза о соответствии нормального закона распределения отклонялась, для описания использовали медианы исследованных показателей, 25- и 75-ю процентиль ($Me (25\%;75\%)$), в остальных случаях – среднее и стандартное отклонение ($M \pm \sigma$).

При сравнении групп предпочтение отдавалось параметрическому t -критерию Стьюдента, а в случае невыполнения условий его применимости непараметрическим критериям Вилкоксона и Манна-Уитни. При множественных сравнениях использовали поправку Бонферонни. Уровень статистической значимости принят равным 0,05.

Анализ выживаемости проводили по методу Каплана–Мейера. Оценивались общая продолжительность жизни, ее рассчитывали от даты хирургического вмешательства до исхода, а также время до прогрессирования. Была построена кривая дожития больных. Кривые дожития анализировали по оценкам Каплан–Мейера, при сравнении кривых выживаемости использовали F-тест Кокса. Сравнение двух независимых групп по сопутствующим факторам производилось с применением критериев непараметрической статистики (U-критерия Манна–Уитни; точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса, критерий χ^2 Пирсона). При количестве независимых выборок более двух использовали тест Крускала–Уоллиса (Kruskal–Wallis). При анализе полученных категориальных показателей использовали критерий χ -квадрат Пирсона (Pearson chi-square), а также точный критерий Фишера. Для оценки связи между наблюдаемыми различиями в группах сравнения и предполагаемыми прогностическими факторами применялись общие регрессионные модели, план однофакторного дисперсионного анализа.

ГЛАВА 3. НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В крови отражаются абсолютно все процессы, происходящие в организме в целом, в отдельных системах и группах клеток. Метод инфракрасной спектроскопии сыворотки крови, с целью выявления общей патологии, был впервые в мире предложен Гордецовым А.С. в 1979 году. ИКС позволяет выявить весь спектр веществ, содержащих связи фосфор-кислород, к которым относятся все липиды, фосфорилированные белки, углеводы, КФК, нуклеиновые кислоты и другие соединения и располагающихся в $1200-800\text{ см}^{-1}$ [Гордецов А.С., 2010].

Была выявлена закономерная связь между интенсивностью характеристических полос поглощения ИК спектра в области $1200-1000\text{ см}^{-1}$ и степенью выраженности патологического процесса, обусловленная количественными и качественными изменениями химического состава веществ в сыворотке крови, вызванными органическими изменениями в организме (Гордецов А.С., 2010; Hands J.R., et al., 2013).

Спектроскопические методики – ПМРС и ИКС тканей позволяют определять спектральные изменения, характерные для наличия определенных метаболитов, специфичных для разных нормальных и опухолевых тканей (Труфанов Г.Е., 2008; Толсторожев Г.Б. и соавт., 2009). Высокая специфичность метода позволила авторам сделать вывод о возможности использовании ИКС тканей в качестве дополнения при морфологическом исследовании опухолей головного мозга (Steiner G., 2003; Krafft C., 2004, 2007). Интересными являются исследования тканей ОГМ в плане дифференциальной диагностики и перифокальной зоны на наличие признаков злокачественности в ней (Steiner G., 2003; Krafft C., 2004, 2007). Исследование сыворотки крови с помощью Фурье ИКС позволяет дифференцировать между собой ОГМ с низкой и высокой степенью злокачественности и ОГМ от неопухолевых заболеваний (Hands J.R., et

al., 2014) и некоторые морфологические виды опухолей головного мозга (Hands J.R., et al., 2016).

Метод ИК спектроскопии сыворотки крови использован в наших исследованиях для диагностики злокачественных и доброкачественных ОГМ, дифференциальной диагностики морфологического вида опухолей, ранней диагностики продолженного роста злокачественных опухолей, определения эффективности проводимой противоопухолевой терапии (оперативное лечение, химиотерапия, лучевая терапия).

Дизайн исследования: простое, слепое, проспективное, когортное исследование больных опухолями головного мозга.

3.1 Инфракрасная спектроскопия в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей головного мозга

Для проведения дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных ОГМ производили ИКС исследование сыворотки крови пациента, приготовленной по методике, описанной в разделе 2.1 и подразделе 2.3.4

Проведенное исследование показало необходимость разделения больных по половому признаку.

Для дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга у мужчин наиболее информативными оказались следующие полосы поглощения: 1165 см^{-1} ; 1160 см^{-1} ; 1130 см^{-1} ; 1170 см^{-1} ; 1040 см^{-1} .

При представлении результатов значений отношений в виде сферических трехмерных изображений злокачественных и доброкачественных опухолей в трехмерной плоскости максимально информативными были следующие соотношения полос поглощения по системе координат X - $1165/1160\text{ см}^{-1}$, Y - $1165/1130\text{ см}^{-1}$, Z - $1070/1040\text{ см}^{-1}$, которые соответствуют определенным значениям отношений.

Наилучшее разделение сферических трехмерных изображений злокачественных и доброкачественных областей получено при повороте осей: по X- -71° ; по Y- -85° ; по Z- -113° .

Пример пространственного расположения результатов исследований в трехмерной плоскости представлен на рисунке 2.

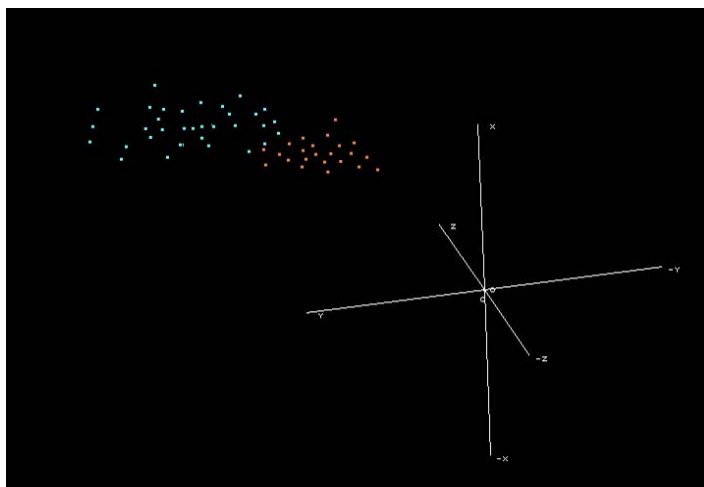


Рисунок 2. – Распределение результатов ИКС исследования больных злокачественными и доброкачественными опухолями в трехмерной плоскости у мужчин

При проекции этих сферических изображений на переднюю плоскость получено два плоских многоугольника – области, характерные для злокачественных и доброкачественных ОГМ, границы которых у мужчин составили следующие пять значений отношений полос поглощения X/Y для злокачественных опухолей головного мозга: $-1,5317/0,9833$; $-1,8117/0,8533$; $-1,4117/0,6733$; $-0,9383/0,7333$; $-0,9683/0,9133(\text{см}^{-1})$.

Для доброкачественных опухолей головного мозга X/Y : $-1,0383/0,6667$; $-1,0317/0,5767$; $-0,4650/0,5567$; $-0,6150/0,7967(\text{см}^{-1})$.

Области, характерные для ЗОГМ и ДОГМ у мужчин, представлены графически на рисунке 3. Многоугольник синего цвета соответствует области злокачественных ОГМ, розовый – доброкачественных ОГМ.

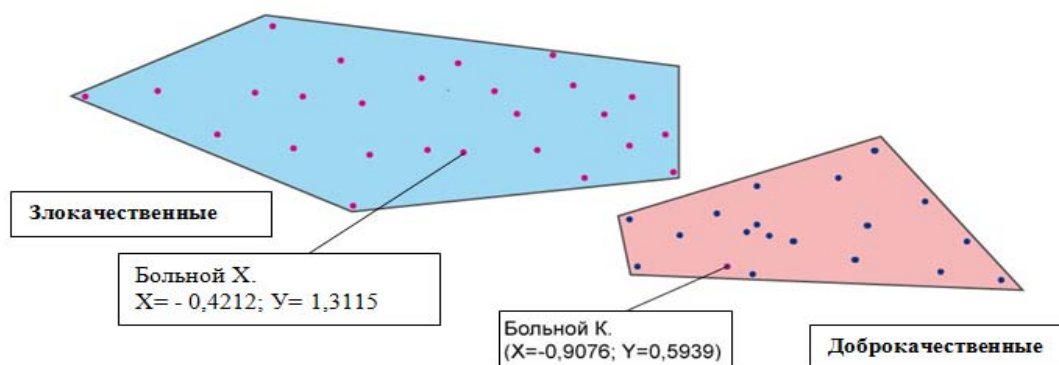


Рисунок 3. – Диаграмма дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга у мужчин

Для дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга у женщин наиболее информативными оказались следующие полосы поглощения: 1165 см^{-1} ; 1150 см^{-1} ; 1125 см^{-1} ; 1100 см^{-1} ; 1050 см^{-1} .

Координатами выбраны максимально информативные соотношения, позволяющие создать трехмерные изображения злокачественных и доброкачественных областей в виде сферических форм: X - $1165/1150$; Y - $1165/1125$; Z - $1100/1050(\text{см}^{-1})$.

Наилучшее пространственное разделение сферических трехмерных изображений злокачественных и доброкачественных областей получено при повороте осей: по X - 77° ; по Y - 81° ; по Z - -71° .

Пример пространственного расположения результатов исследований в трехмерной плоскости представлен на рисунке 4.

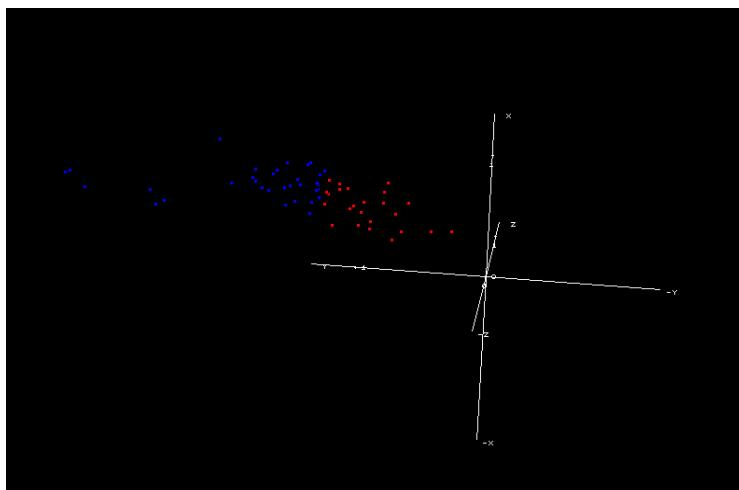


Рисунок 4. – Распределение результатов ИКС исследования больных злокачественными и доброкачественными опухолями в трехмерной плоскости у женщин

При проекции этих сферических изображений на переднюю плоскость получено два плоских многоугольника – области, характерные для злокачественных и доброкачественных ОГМ. Для злокачественных опухолей головного мозга границы многоугольников у женщин составили следующие значения соотношений – X/Y: $-1,1976/0,8810$; $-1,9976/1,1429$; $-3,2643/0,8095$; $-2,4690/0,5714$; $-1,2690/0,5476(\text{см}^{-1})$.

Для доброкачественных опухолей головного мозга X/Y : -1,2071/0,7857; -1,2548/0,5667; -1,1786/0,3714; -0,1357/0,3000; -0,7500/0,7571 (см^{-1}).

Области, характерные для злокачественных и доброкачественных ОГМ у женщин представлены графически на рисунке 5.

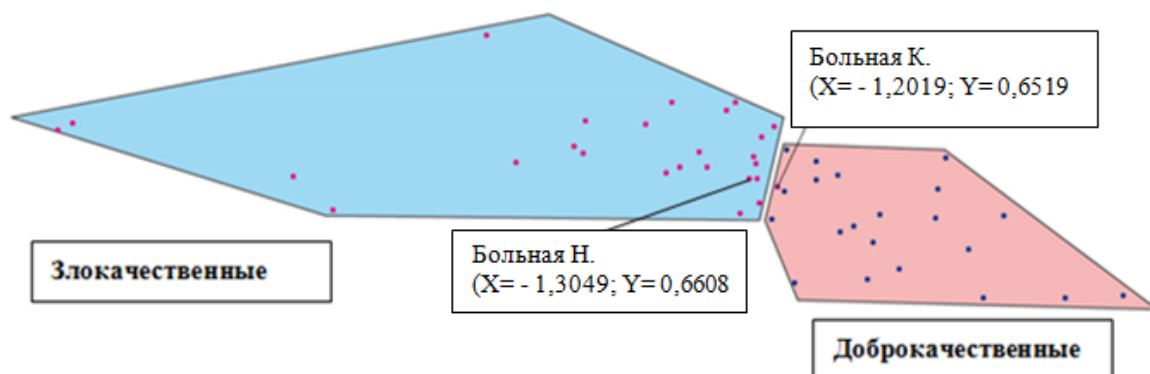


Рисунок 5. – Диаграмма дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей головного мозга у женщин. Многоугольник синего цвета соответствует области злокачественных ОГМ, розовый – доброкачественных ОГМ

Границы эталонных “областей”, отражающих соответственно злокачественные и доброкачественные опухоли установлены в результате обследования 103 больных, из которых мужчин со ЗОГМ было 33 (32,04%), женщин - 29 (28,15%), мужчин с ДОГМ было 19 (18,45%), женщин - 22 (21,36%).

Данный способ диагностики позволяет определить характер новообразований головного мозга – доброкачественный или злокачественный. Диагностику производят в зависимости от расположения результатов обследования пациента, которые представлены на диаграмме в виде точки. Ее координаты характеризуют наличие образования конкретного пациента внутри области, характерной для злокачественной или доброкачественной ОГМ.

Указанные вычисления проводятся в ручном режиме. Для ускорения процесса расчетов математическая обработка полученных данных производится с помощью компьютерной программы, созданной специально для этих исследований. Данная программа позволяет однозначно идентифицировать положение точки, отражающей параметры сыворотки крови больного и определять ее принадлежность к той или иной области, характерной для злокачественных или доброкачественных ОГМ, не отнимая при этом много

времени. Программа позволяет выполнить следующие действия: вычисляет значения величин отношений высот пиков, в результате для каждой из групп определяется точка, имеющая координаты в трехмерном (объемном) измерении (X; Y; Z). Затем осуществляет проецирование данной точки во фронтальную плоскость для получения изображения в двумерной системе координат (X; Y) и проводит идентификацию положения этой точки относительно областей, характерных для злокачественных или доброкачественных ОГМ.

Зависимости показателей ИКС сыворотки крови больных, по используемым нами спектрам, от наличия сопутствующих заболеваний выявлено не было.

Полученные результаты подтверждены гистологическими, клиническими, и нейровизуализационными обследованиями.

Чувствительность и специфичность метода ИКС сыворотки крови в дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных ОГМ, составила 86,6% и 97,6% соответственно.

В приведенных клинических примерах продемонстрирована возможность применения ИК спектроскопии в дифференциальной диагностике опухолей головного мозга.

Клинический пример № 1. Больной Х., 45 лет, и./б. № 7143, диагноз: внутримозговая опухоль лобно-височной области слева. Сопутствующей патологии не выявлено.

Жалоб при поступлении не предъявлял из-за тяжести состояния.

Анамнез: головные боли начались с 1 сентября 2005г., лечился амбулаторно без улучшения. После КТ головного мозга выявлена опухоль, госпитализирован в больницу №39 в плановом порядке для оперативного лечения.

При поступлении в неврологическом статусе: дезориентирован, неадекватен, некритичен, центральный парез 7 нерва справа, анизорефлексия D>S, координаторные нарушения, положителен верхний симптом Барре справа. Состояние по ШК – 50 баллов.

КТ от 26.09.05 – внутримозговая опухоль лобно-височной области слева до 8 см в диаметре (рисунок 6). Консультация окулиста от 6.10.05 OD/OS не ниже 0,4

с двух сторон. Поля ориентировочно - не изменены. Гл. дно - выраженные застойные диски зрительных нервов. Общеклинические анализы в пределах нормы.

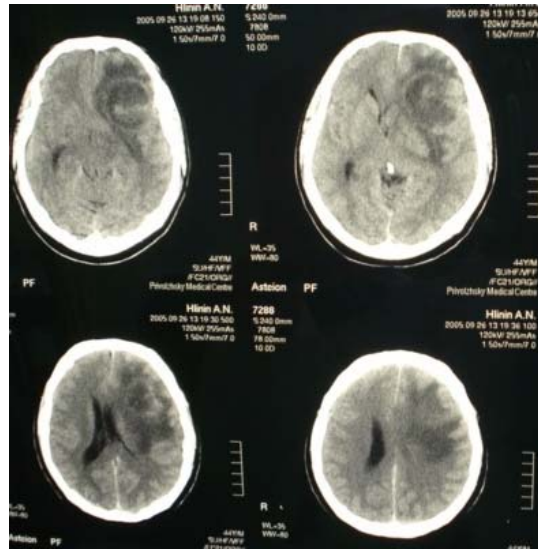


Рисунок 6.– КТ больного Х. от 24.09.2005. Опухоль лобно-височной области слева

7.10.05 был выполнен забор крови для проведения ИКС сыворотки крови в соответствии с описанным выше способом. Получили следующие результаты: $X = -0,4212$; $Y = 1,3115$, что свидетельствует о наличии злокачественного новообразования (рисунок 3, точка X).

Больной оперирован 12.10.05, произведено удаление опухоли. Данные ИКС подтверждены результатами гистологического исследования. Гистология № 4980/5004 – глиобластома, полиморфноклеточный вариант, Grade IV.

Клинический пример № 2. Больной К., 66 л, история болезни № 4128, находился на лечении в 1 НХО с 26.06.06 по 16.07.06, с диагнозом: опухоль (менингиома?) задне-лобно-теменной области справа.

При поступлении жалобы: постоянные головные боли, слабость, и неловкость в левых конечностях, шаткость походки.

Анамнез: слабость в ноге беспокоит около года, с января присоединилась слабость в руке, головная боль, шаткость походки, снижение зрения, головокружение. После МРТ головного мозга выявлена опухоль, госпитализирован в больницу №39 в плановом порядке для оперативного лечения.

При поступлении в неврологическом статусе: критика несколько снижена, левосторонний гемипарез со снижением силы до 3 баллов, координаторные нарушения. Состояние по ШК – 70 баллов.

Инструментальные данные обследования: МРТ от 15.06.06 опухоль задне-лобно-теменной области справа конвексально (рисунок 7). Общеклинические анализы в пределах нормы.

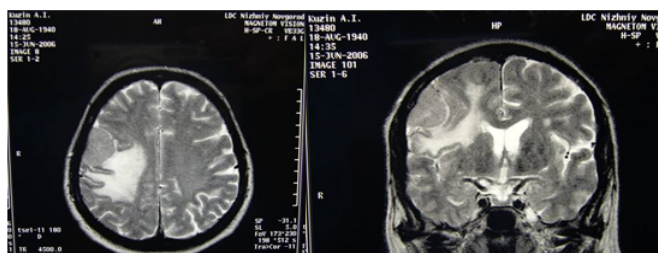


Рисунок 7. – МРТ от 15.06.06 без контрастного усиления. Опухоль задне-лобно-теменной области справа (менингиома?), перитуморальный отек

27.06.06 проведен ИКС анализ крови в соответствии с описанным методом. Было установлено наличие доброкачественного новообразования: $X = -0,9076$; $Y = 0,5939$ – (рисунок 3, точка К).

4.07.06 опухоль удалена тотально, размеры опухоли 3,0X4,0X3,5 см. Данные ИКС подтверждены результатами гистологического исследования. Гистология № 3730-41 от 23.05.13 – менинготелиоматозная менингиома.

Клинический пример № 3. Больная К., 48 л., и.б. № 8373, диагноз: Опухоль мосто-мозжечкового угла слева. Сопутствующей патологии не выявлено.

Жалобы: головные боли, снижение слуха на левое ухо, поперхивание при еде, шаткость походки.

Анамнез: болеет на протяжении 2 лет, когда появилась головная боль. За последние 6 месяцев состояние ухудшилось, присоединилась шаткость походки, поперхивание, снизился слух на левое ухо. Лечилась у неврологов с улучшением. Повторное ухудшение несколько месяцев назад. Лечилась амбулаторно. В связи с отсутствием эффекта от терапии больной выполнена МРТ и она направлена в 39 больницу для оперативного лечения.

При поступлении в неврологическом статусе: легкий периферический парез VII нерва слева, снижение слуха слева. Снижение глоточного рефлекса слева,

неустойчивость в позе Ромберга, SpHNy больше вправо. Состояние по ШК – 70 баллов. МРТ от 19.11.05 – опухоль (менингиома, диф. диагноз с невриномой) левого ММУ (рисунок 8). Общеклинические анализы в пределах нормы.

Перед операцией 30.11.05 проведен ИКС анализ крови в соответствии с описанным методом. Было установлено наличие доброкачественного новообразования: $X = -1,2019$; $Y = 0,6519$ – (рисунок 5, точка К).

8.12.05 – тотальное удаление опухоли. Выявлено прорастание опухолью задних отделов пирамиды височной кости. Результаты, полученные при использовании ИКС сыворотки крови, подтверждены данными гистологического исследования. Гистологическое исследование от 15.12.05 № 6191/6215 – фибробластическая менингиома.

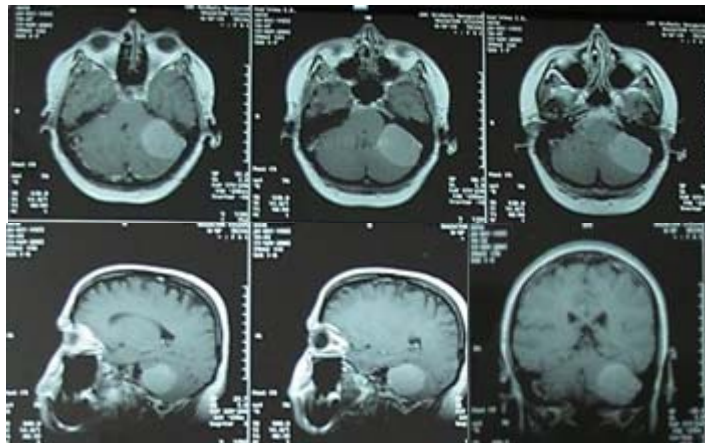


Рисунок 8. – МРТ больной К. от 19.11.05 с контрастным усилением – опухоль левого ММУ

Клинический пример № 4. Больная Н. 35 л., и.б. № 689, диагноз: внутримозговая опухоль правой теменно-височной области. Сопутствующей патологии не выявлено.

Жалобы при поступлении: выраженные головные боли в лобно-височной области слева.

Анамнез: беспокоят нарастающие головные боли на протяжении 2 мес. На протяжении последней недели состояние ухудшилось. Находилась на амбулаторном лечении. Проводилась медикаментозная терапия. В связи с ухудшением 1.02.07 выполнена МРТ головного мозга, выявлена опухоль, и больная была переведена в нейрохирургическое отделение больницы №39.

При поступлении неврологически: сознание на уровне оглушения 2, центральный парез 7 нерва слева, анизорефлексия $S>D$, положителен верхний симптом Барре слева, Состояние по ШК – 60 баллов.

МРТ от 01.02.07 – опухоль правой теменно-височной области 5,9X5,1X5,1 см. с явлением умеренного перифокального отека (рисунок 9). На глазном дне – застой I степени по Е.Ж. Трону.

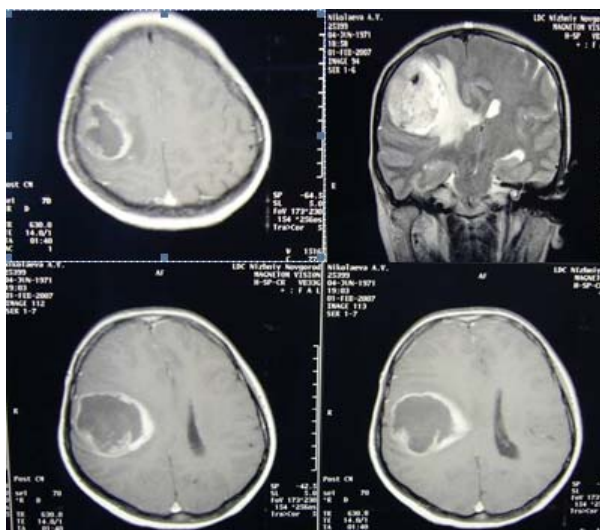


Рисунок 9. – МРТ больной Н. от 01.02.07 – опухоль правой теменно-височной области 5,9X6,0X6,2 см. с явлением умеренного перифокального отека

Перед операцией 06.02.07 выполнен забор крови для проведения ИКС сыворотки в соответствии с предлагаемым методом. По результатам обследования было установлено наличие злокачественного новообразования: $X = 1,3049$; $Y = 0,6608$ (рисунок 5, точка Н).

6.02.07 удаление опухоли. Результаты, полученные при ИКС сыворотки крови больной Н., были подтверждены результатами гистологического исследования. Гистологическое исследование № 833 от 20.02.07 – глиобластома с обширными некрозами. Степень злокачественности - IV.

Выявленные нами различия в подходе к диагностике продолженного роста у мужчин и женщин, по-видимому, связана с разницей гормонального фона, что подтверждается в недавних исследованиях зависимости между опухолевой прогрессией, злокачественной трансформацией и беременностью у молодых женщин (Daras M., 2014).

Предлагаемый метод диагностики злокачественных и доброкачественных ОГМ с помощью ИКС сыворотки крови больных был подтвержден проводимыми в более позднем периоде исследованиями зарубежных авторов (Wehbe K., 2014; Hands J.R., 2014). Авторы отмечают более высокую чувствительность и специфичность метода - 93,75% и 96,53% соответственно.

Таким образом, метод ИК спектроскопии сыворотки крови позволяет в дооперационном периоде с высокой степенью чувствительности и специфичности дифференцировать злокачественные и доброкачественные опухоли головного мозга. Кроме того, метод ИКС показал наличие отличий между опухолями у женщин и мужчин по данным ИКС сыворотки крови.

Возможность дооперационного уточнения характера опухоли головного мозга является важным моментом, поскольку во многом определяет тактику оперативного вмешательства и расширяет возможность ранней неoadьювантной химиотерапии опухолей ЗОГМ.

По данной методике получен патент на изобретение № 2350953 от 27.03 2009г.

3.2 Инфракрасная спектроскопия в прогнозировании морфологического характера опухолей головного мозга в дооперационном периоде

Важным фактором, во многом определяющим тактику и эффективность лечения ОГМ, является не только их раннее выявление, четкое определение локализации, но и гистологический характер новообразования. Известны попытки определения степени злокачественности опухоли при исследовании сыворотки крови и ликвора при изучении лактата, разных белков, в том числе семейства B7, как биомаркеров степени анаплазии (Baral A., et al., 2014; Kazakova M.H., et al., 2014; Mariappan R. et al., 2015; Hands J.R., 2016).

С целью прогнозирования морфологического характера опухоли мы провели исследование в группе 77 больных ОГМ, находившихся на лечении в Нижегородском нейрохирургическом центре и в ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России с 2005 по 2012 гг. Глиобластомы диагностированы у 22 (24,72%) больных, астроцитомы – у 21 (23,60%), невриномы – у 13 (14,61%), менингиомы – у 12

(13,48%), эпендимома – у 11 (12,36%), олигодендроastroцитомы – у 10 (11,23%) пациентов. Группа контроля – 28 здоровых добровольцев в возрасте 18-23 лет.

Все гистологические диагнозы в послеоперационном периоде были подтверждены морфологическим исследованием, в 42 (47,2%) случаях проводилось иммуногистохимическое обследование с исследованием Ki 67, GFAP, NSE9, CD99, Syn, p53.

Методика получения материала для исследования описана в разделе «Материалы и методы». Для прогнозирования гистологического характера опухолей исследование осуществляли методом ИКС в области $1200-1000\text{ см}^{-1}$. Вначале определяли высоту пиков полос поглощения с максимумами 1170 см^{-1} ; 1165 см^{-1} ; 1160 см^{-1} ; 1150 см^{-1} ; 1140 см^{-1} ; 1130 см^{-1} ; 1125 см^{-1} ; 1100 см^{-1} ; 1070 см^{-1} ; 1050 см^{-1} и 1025 см^{-1} . Затем вычисляли значения отношений высот пиков полос поглощения ($\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$): 1 - $1165/1160$; 2 - $1165/1070$; 3 - $1165/1150$; 4 - $1165/1140$; 5 - $1040/1070$; 6 - $1165/1130$; 7 - $1070/1025$; 8 - $1165/1050$; 9 - $1165/1025$; 10 - $1100/1050$; 11 - $1170/1150$; 12 - $1170/1160$; 13 - $1125/1165$.

Для получения дифференциально-диагностических профилей строили графики, состоящие из 13-ти радиальных лучей, исходящих из центра (в системе координат 0:0) с углом между собой в $27,8^{\circ}$. Каждый из лучей соответствует определенному отношению пиков полос поглощения. На этих лучах откладывают соответствующие вычисленные значения отношений, и, соединяя между собой концы отрезков, получают плоские многоугольники, которые и являются дифференциально-диагностическими профилями ОГМ, соответствующими разным по морфологическому строению опухолям.

При распределении больных по группам в зависимости от результатов гистологических исследований мы пользовались международной классификацией ВОЗ (Lyon, 2007).

При проведении исследования были выявлены статистически достоверные корреляции между морфологическим диагнозом, уточненным по результатам гистологического или иммуногистохимического исследования опухолей больных с одной стороны и значениями отношений 13 пиков поглощения полос при ИКС

сыворотки крови, в том числе, отраженными в виде лепестковой диаграммы с другой стороны.

Значения отношений пиков поглощения в зависимости от гистологического характера опухоли головного мозга представлены в таблице 5.

Таблица 5.– Значения отношения пиков поглощения полос ИК спектра и гистологического характера опухоли

№ луча	Отношения полос поглощения ($\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$)	Морфологический вид опухоли						
		Норма n=28	ГБ n=32	АА n=30	АОДА n=10	ЭП n=11	МНГ n=12	НВР n=13
1	1165/1160	0,71 ± 0,07	0,83 ± 0,04*	0,56 ± 0,07*	0,50 ± 0,02	0,38 ± 0,03*	0,40 ± 0,03*	0,53 ± 0,01*
2	1165/1070	0,82 ± 0,21	1,16 ± 0,12*	0,54 ± 0,06*	0,50 ± 0,05*	0,15 ± 0,04*	0,35 ± 0,03*	0,35 ± 0,05*
3	1165/1150	0,54 ± 0,06	0,62 ± 0,01*	0,42 ± 0,05*	0,50 ± 0,02	0,26 ± 0,09*	0,37 ± 0,01*	0,48 ± 0,01
4	1165/1140	0,50 ± 0,08	0,63 ± 0,04*	0,39 ± 0,02*	0,50 ± 0,02	0,25 ± 0,07*	0,35 ± 0,01*	0,53 ± 0,01
5	1040/1070	1,25 ± 0,29	1,26 ± 0,21	1,34 ± 0,16	1,14 ± 0,03	1,16 ± 0,07	1,07 ± 0,01	0,85 ± 0,07*
6	1165/1130	0,84 ± 0,26	1,26 ± 0,13*	0,73 ± 0,17	1,44 ± 0,04*	0,30 ± 0,03*	0,54 ± 0,01*	0,90 ± 0,08
7	1070/1025	1,01 ± 0,41	0,73 ± 0,12	0,72 ± 0,12	0,75 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,93 ± 0,03	1,28 ± 0,09
8	1165/1050	0,64 ± 0,18	0,96 ± 0,13*	0,44 ± 0,01*	0,41 ± 0,06	0,12 ± 0,03*	0,34 ± 0,01*	0,40 ± 0,01*
9	1165/1025	0,80 ± 0,21	1,13 ± 0,01*	0,38 ± 0,08*	0,37 ± 0,03*	0,12 ± 0,03*	0,32 ± 0,01*	0,45 ± 0,02*
10	1100/1050	0,28 ± 0,17	0,27 ± 0,13	0,27 ± 0,12	0,33 ± 0,04	0,41 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,52 ± 0,03*
11	1170/1150	0,18 ± 0,11	0,34 ± 0,04*	0,15 ± 0,05	0,17 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,05 ± 0,01*
12	1170/1160	0,24 ± 0,14	0,34 ± 0,14	0,20 ± 0,07	0,16 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,04 ± 0,01*
13	1125/1165	0,86 ± 0,36	0,57 ± 0,18	0,97 ± 0,17	0,46 ± 0,03*	2,50 ± 0,70*	1,13 ± 0,05	0,73 ± 0,09

ГБ – глиобластома; АА – анапластическая астроцитома; АОДА – анапластическая олигодендроастроцитома; ЭП – эпендимома; МНГ – менингиома; АГ – аденома гипофиза; НВР – невринома.

* - различия достоверны по сравнению с группой здоровых людей ($p \leq 0,05$).

Полученные результаты значений отношения 13 пиков поглощения полос ИК спектра для наглядности отражают графически в виде дифференциально-

диагностических профилей ОГМ, которые представлены на диаграммах 10-15 (рисунки 10-15).

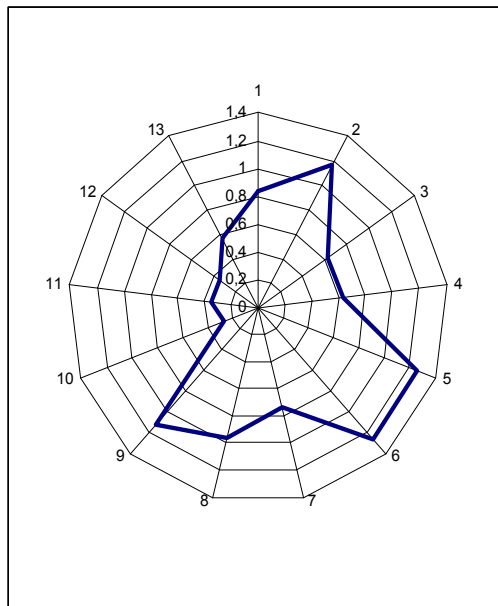


Рисунок 10.– Дифференциально-диагностический профиль глиобластомы (Grade IV)

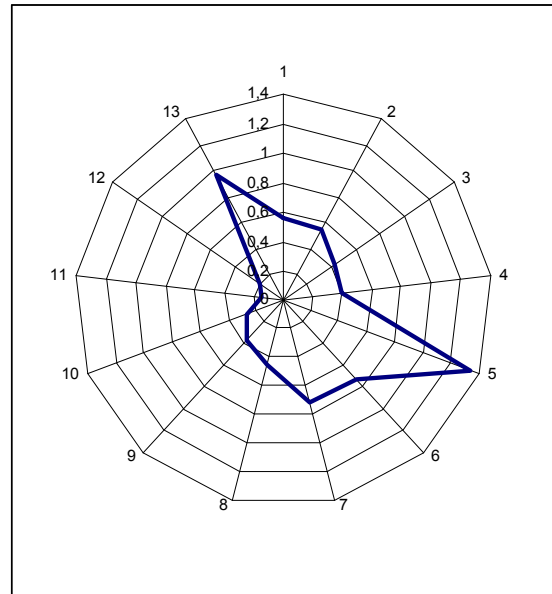


Рисунок 11.– Дифференциально-диагностический профиль анапластической астроцитомы (Grade III)

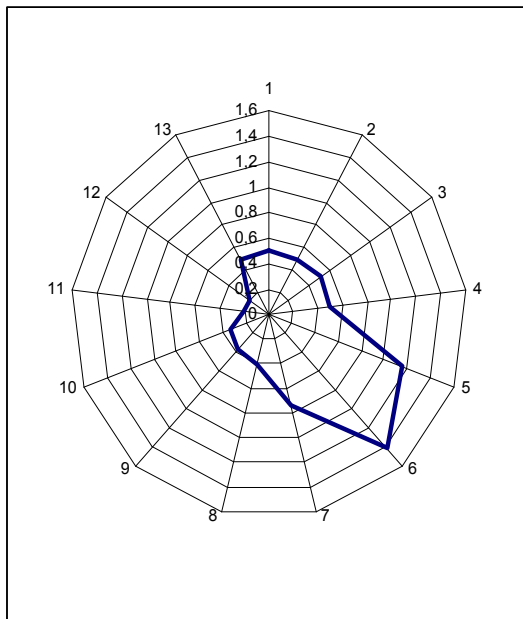


Рисунок 12.– Дифференциально-диагностический профиль анапластической олигодендроастроцитомы (Grade III)

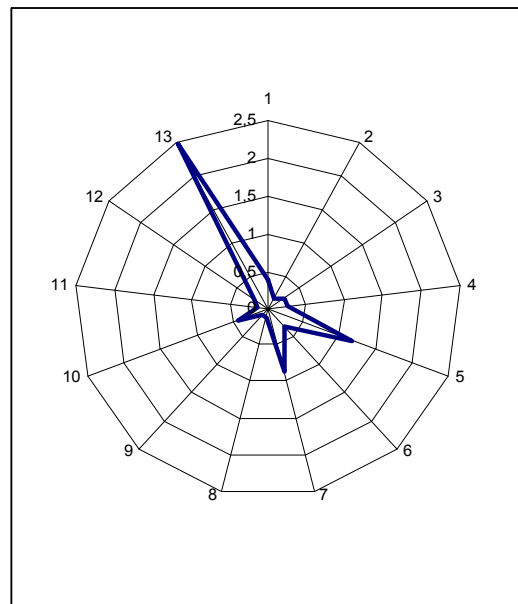


Рисунок 13.– Дифференциально-диагностический профиль эпендимомы (Grade II)

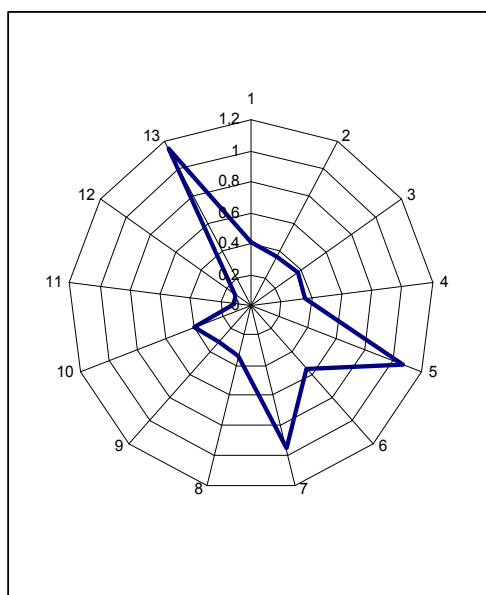


Рисунок 14.— Дифференциально-диагностический профиль менингиомы

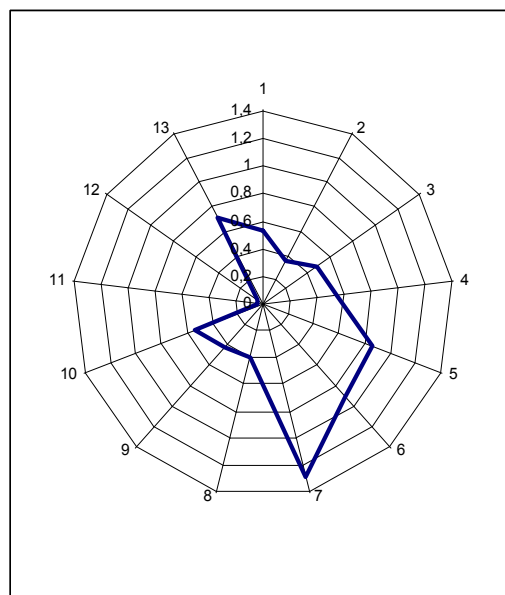


Рисунок 15.— Дифференциально-диагностический профиль невриномы.

В клинической практике совпадение всех 13 значений отношений образца сыворотки крови пациента со значениями отношений того или иного эталонного профиля прогнозирует наличие у пациента определенного морфологического характера опухоли головного мозга. Для наглядности полученный дифференциально-диагностический графический профиль пациента сравнивают с эталонным графическим профилем, представленным в виде диаграммы. Совпадение результатов свидетельствует о наличии у больного определенного вида опухоли головного мозга.

При дифференциальной диагностике ОГМ точность метода ИКС составляет 71,71 %, чувствительность – 78,18 %, специфичность – 63,63 %. Важно отметить, что ошибки чаще встречались при дифференциальной диагностике менингиом и ЗОГМ. При диагностике опухолей Grade II, III, IV ошибки были единичны.

В приведенных клинических примерах продемонстрирована возможность применения ИК спектроскопии в дифференциальной диагностике морфологической структуры ОГМ.

Клинический пример № 5. Больной Ю., 58 лет, и./б. № 258230, находился на лечении с 28.11.11 по 16.12.11. с диагнозом: продолженный рост глиобластомы правой лобно-теменной области.

Жалобы при поступлении: головная боль, слабость и ограничение движений в левых конечностях.

Анамнез: заболел в октябре 2009г, когда появилось онемение в левых конечностях, лечился по поводу ОНМК. При обследовании выявлена опухоль, оперирован по поводу опухоли (анapластическая астроцитома) в тяжелом состоянии в нейрохирургическом отделении областной больницы 23.12.2009 г. Кость на место не установлена. После операции прошел курс ЛТ- 60 Гр. Ухудшение в ноябре текущего года, когда появились выше указанные жалобы. На МРТ выявлен продолженный рост опухоли, направлен на лечение в ННИИТО.

При поступлении неврологически: сознание на уровне оглушения 1, гемипарез слева, анизорефлексия $S > D$, Состояние по ШК – 50 баллов, ECOG 3 балла. В первые сутки проведена активная противоотечная терапия (маннит, лазикс, дексаметазон). Состояние больного улучшилось.

МРТ от 28.11.11 – продолженный рост опухоли правой лобно-теменной области 8,5X8X7,5 смс перифокальным отеком (рисунок 16). КТ от 29.11.11 – продолженный рост опухоли (рисунок 17).

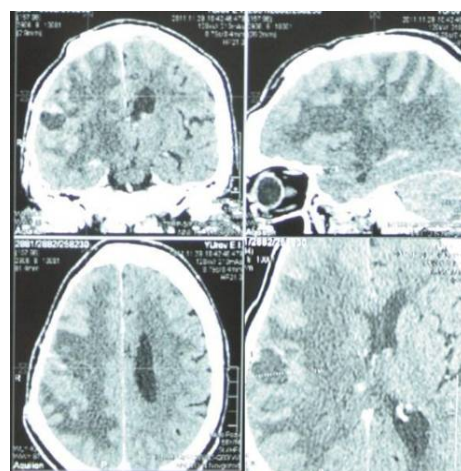
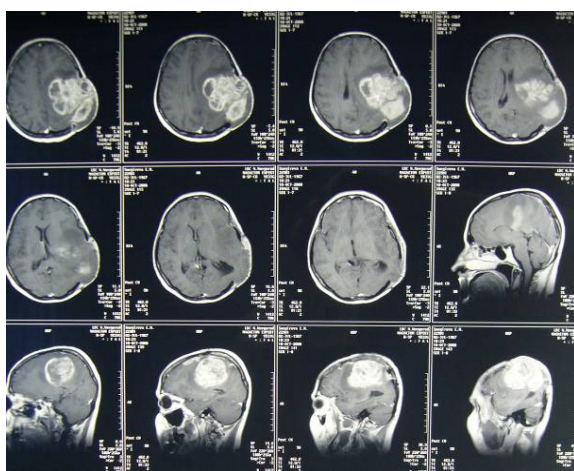


Рисунок 16. –МРТ больного Ю. от 28.11.12. Рисунок 17. КТ больного Ю. от 29.11.12.

По данным МРТ и КТ больного определяется продолженный рост опухоли лобно-теменной области слева, перитуморальный отек, смещение срединных структур 0,8 см. Учитывая гетерогенную структуру образования, характер накопления контраста, наличие выраженного отека, объемного воздействия, предположительный диагноз – глиобластома.

При ИКС сыворотки крови от 29.11.11 получены результаты, соответствующие диагнозу «глиобластома» (таблица 6).

Таблица 6. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больного Ю.

Значения отношений	$\text{см}^{-1} / \text{см}^{-1}$
0,85	1165/1160
1,12	1165/1070
0,61	1165/1150
0,63	1165/1140
1,04	1040/1070
1,14	1165/1130
0,78	1070/1025
0,96	1165/1050
1,12	1165/1025
0,28	1100/1050
0,3	1170/1150
0,42	1170/1160
0,49	1125/1165

Графически дифференциально-диагностический профиль глиобластомы представлен на рисунке 18.

Больной оперирован 1.12.11 – микрохирургическое удаление опухоли. Результаты гистологического обследования № 11825-11831 от 12.12.11 – глиобластома (рисунок 19).

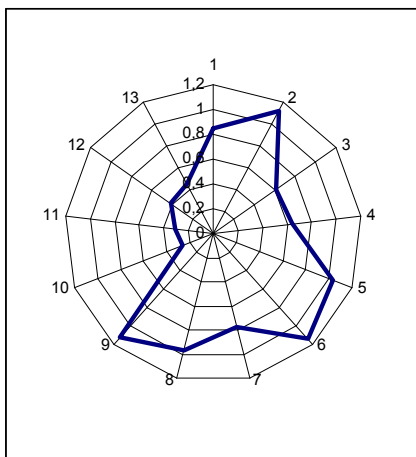


Рисунок 18. –Диаграмма дифференциально-диагностического профиля глиобластомы (Grade IV) больного Ю.

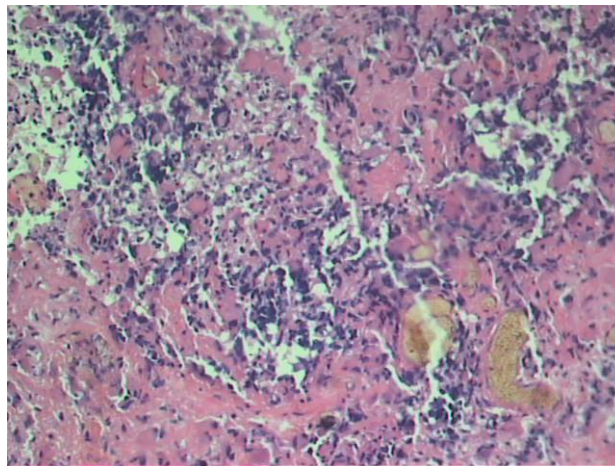


Рисунок 19. – Гистологический препарат глиобластомы больного Ю. Окраска гематоксиллин-эозин. Ув. X 200

Данный пример демонстрирует соответствие результатов дооперационной ИК спектроскопии сыворотки крови больного результатам МРТ, КТ и гистологического обследования.

Клинический пример № 6. Больная З., 43 г. карта № 194, и/б. №7608, находилась на лечении с 27.10.05 по 15.11.05. с диагнозом: внутримозговая опухоль правой лобной доли парасагиттально. Сопутствующей патологии не выявлено.

Жалобы при поступлении: головные боли, был однократный эпилептический приступ.

Анамнез: за 2 месяца до поступления в больницу у больной впервые в жизни возник эпилептический приступ с судорожным компонентом. Лечилась в неврологии по месту жительства. При КТ заподозрена опухоль головного мозга. После дообследования на МРТ больная была переведена в нейрохирургическое отделение больницы №39.

При поступлении неврологически: сознание ясное, анизорефлексия S>D, шаткость в позе Ромберга, состояние по ШК – 80 баллов, ECOG 1 балл.

КТ от 3.10.05 (рисунок 20) и МРТ от 07.10.05 (рисунок 21) – опухоль с кистозным компонентом правой лобной области парасагиттально 4X3X4 см. с явлением умеренного перифокального отека.

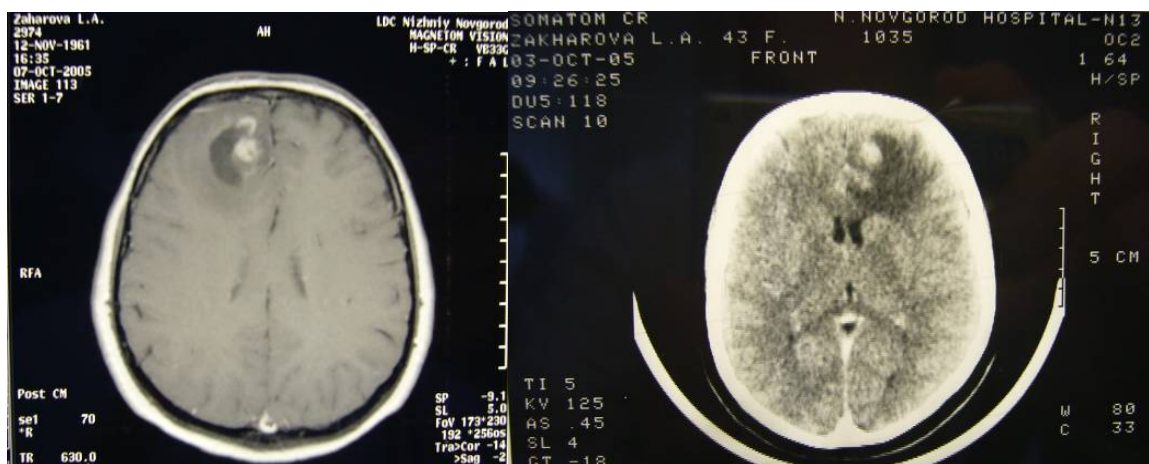


Рисунок 20. – МРТ больной З. от 07.10.05. Рисунок 21. КТ больной З. от 03.10.05

По данным КТ и МРТ определяется кистозная опухоль лобной области справа, умеренный перитуморальный отек, смещение срединных структур 0,4 см. Учитывая гетерогенную структуру, характер накопления контраста, наличие умеренного отека, необходимо проводить дифференциальный диагноз между анапластической астроцитомой и глиобластомой.

При ИКС сыворотки крови от 28.10.2005 получены результаты, соответствующие диагнозу «анапластическая астроцитома» (таблица 7).

Таблица 7. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больной 3.

Значения отношений	$\text{см}^{-1} / \text{см}^{-1}$
0,52	1165/1160
0,53	1165/1070
0,38	1165/1150
0,36	1165/1140
1,2	1040/1070
0,67	1165/1130
0,79	1070/1025
0,46	1165/1050
0,42	1165/1025
0,15	1100/1050
0,1	1170/1150
0,13	1170/1160
1,0	1125/1165

Графически дифференциально-диагностический профиль анапластической астроцитомы представлен на рисунке 22.

Больная оперирована 1.11.05 – микрохирургическое удаление опухоли. Результаты гистологического обследования № 5494-5499 от 12.11.05 – анапластическая астроцитома, степень анаплазии Grade III (рисунок 23).

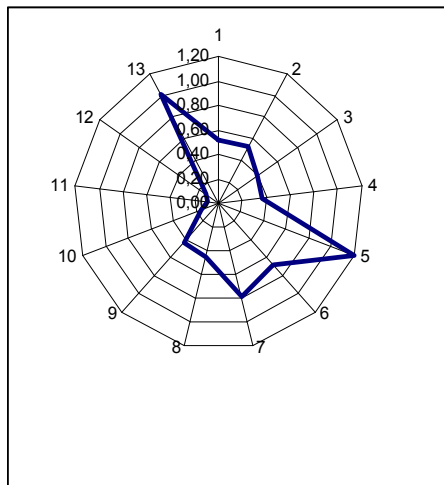


Рисунок 22. –Диаграмма дифференциально-диагностического профиля анапластической астроцитомы больной 3. (Grade III)

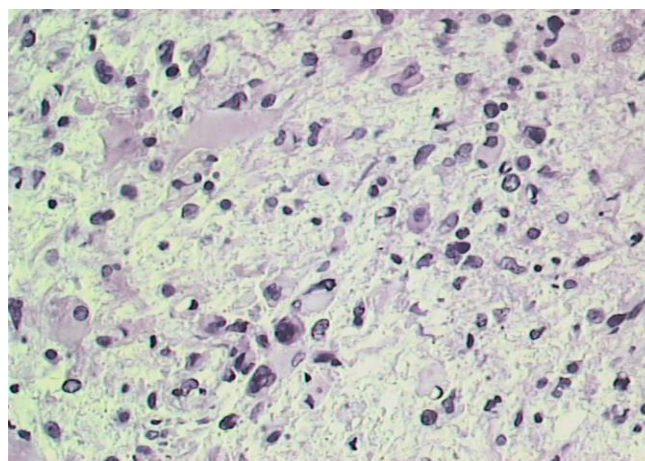


Рисунок 23. –Гистологический препарат анапластической астроцитомы больной 3. Окраска гематоксиллин-эозин (Grade III). Ув. X 400

Данный пример демонстрирует соответствие результатов дооперационной ИК спектроскопии сыворотки крови больной результатам гистологического обследования, когда была диагностирована анапластическая астроцитома. По данным дооперационных МРТ и КТ однозначно верифицировать диагноз было невозможно.

Клинический пример № 7. Больная Ш., 26 л., и./б. № 264514, находилась на лечении с 3.10.12 по 19.10.12. с диагнозом: внутримозговая опухоль левой лобной доли. Сопутствующей патологии не выявлено.

Жалобы при поступлении: выраженные головные боли с рвотой по утрам, снижение памяти, головокружения.

Анамнез: беспокоят нарастающие головные боли в течении 3 мес. Лечилась самостоятельно без эффекта. На протяжении последней недели состояние ухудшилось. Начала снижаться память, появилась эмоциональная лабильность. Находилась на амбулаторном лечении. Проводилась медикаментозная терапия. Выполнена МРТ головного мозга, выявлена опухоль, и больная была госпитализирована в нейрохирургическое отделение ННИИТО.

При поступлении неврологически: сознание ясное, эйфорична, несколько дезориентирована во времени, пошатывание в позе Ромберга. Состояние по ШК – 80 баллов, ECOG 2 балла. МРТ от 13.09.12 – опухоль левой лобной доли 3,5X4X3,0см. с явлением выраженного перифокального отека (рисунок 24). На глазном дне – застой I степени по Е.Ж. Трону.

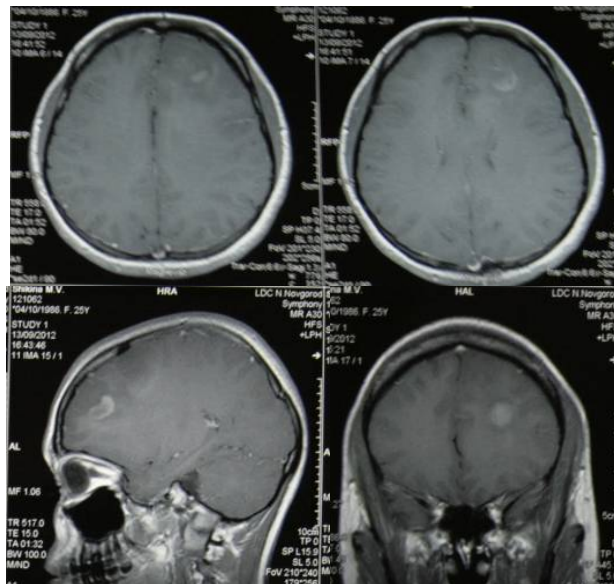


Рисунок 24. – МРТ больной Ш. от 13.09.12. Опухоль лобной области справа, умеренный перитуморальный отек, смещение срединных структур 0,4 см.

Учитывая гетерогенную структуру образования, характер накопления контраста, наличие умеренного отека, необходимо проводить дифференциальный диагноз между анапластической астроцитомой и глиобластомой.

При ИКС сыворотки крови от 4.10.2012 получены результаты, соответствующие диагнозу «олигодендроастроцитомы» (таблица 8).

Таблица 8. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больной Ш.

Значения отношений	см ⁻¹ / см ⁻¹
0,49	1165/1160
0,45	1165/1070
0,52	1165/1150
0,48	1165/1140
1,17	1040/1070
1,4	1165/1130
0,76	1070/1025
0,37	1165/1050
0,34	1165/1025
0,31	1100/1050
0,21	1170/1150
0,19	1170/1160
0,48	1125/1165

Графически дифференциально-диагностический профиль олигодендроастроцитомы представлен на рисунке 25.

10.10.12 – микрохирургическое удаление опухоли. Результаты гистологического исследования № 9288-9294 от 19.10.12 – анапластическая олигодендроастроцитомы. Иммуногистологическое обследование от 11.12.12 № 1619-23/295/12 - анапластическая олигоастроцитомы с высокой митотической активностью (Gr. III) (рисунок 26).

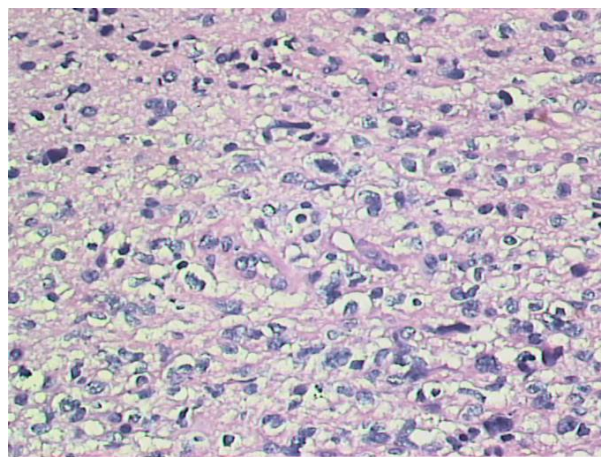
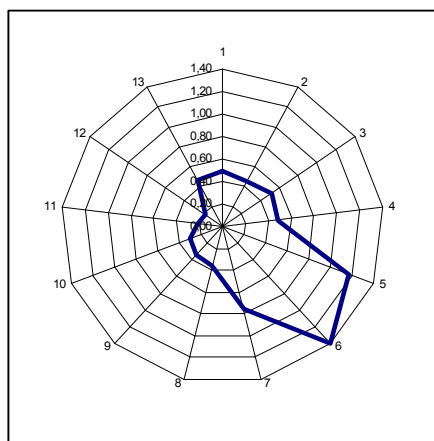


Рисунок 25. – Диаграмма дифференциально-диагностического профиля анапластической олигодендроастроцитомы больной Ш. (Grade III)

Рисунок 26. – Гистологический препарат анапластической олигодендроастроцитомы больной Ш. Окраска гематоксиллин-эозин. Ув. X 400

Данный пример демонстрирует соответствие результатов дооперационной ИК спектроскопии сыворотки крови больной результатам гистологического и

иммуногистохимического обследования, когда была диагностирована анапластическая олигоастроцитома. По данным дооперационных МРТ однозначно верифицировать диагноз было невозможно.

Клинический пример № 8. Больной Н., 65 л., и./б. № 2610, находился на лечении с 25.04.06, умер после операции вследствие кровоизлияния в ложе опухоли и желудочковую систему 13.05.06 с диагнозом: внутримозговая опухоль медиальных отделов теменной доли справа. Сопутствующей грубой патологии не выявлено.

Жалобы при поступлении: активно не предъявлял из-за неадекватности.

Анамнез: со слов жены с февраля текущего года стал «заговариваться», появилась неадекватность, слабость в левых конечностях, стал падать при ходьбе. Находился на амбулаторном лечении, в связи отсутствием эффекта от терапии направлен на МРТ, выявлена опухоль, и больной был переведен в нейрохирургическое отделение больницы №39.

При поступлении неврологически: неадекватен, критика снижена, дезориентирован в пространстве и времени, левосторонний гемипарез, больше в ноге, анизорефлексия $S > D$, левосторонняя полная гомонимная гемианопсия. Состояние по ШК – 50 баллов, ECOG 3 балла.

Инструментальные методы обследования: МРТ от 10.04.06 – кистозная опухоль медиальных отделов теменной области справа, размером 5,9X5,1X5,1 см. с незначительным перифокальным отеком (рисунок 27). На глазном дне – застойных явлений не выявлено.

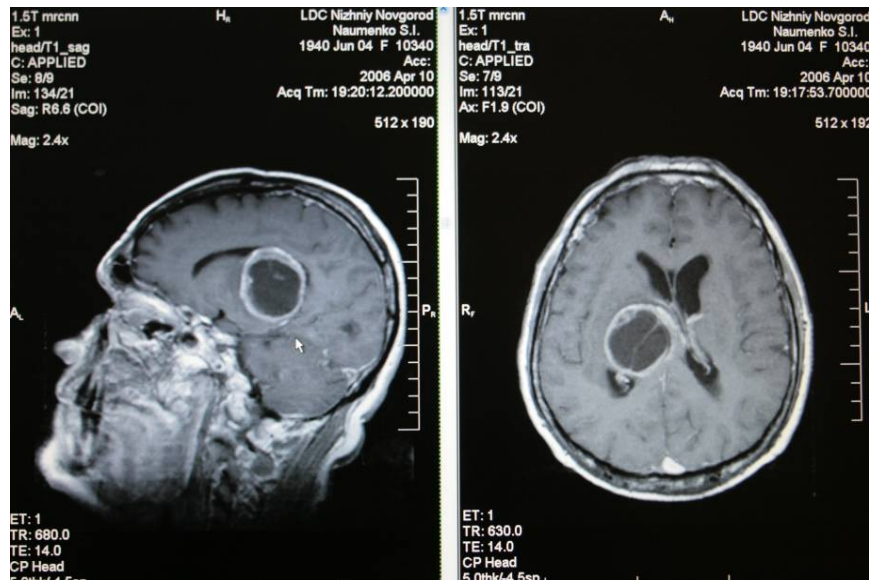


Рисунок 27. – МРТ больного Н. от 10.04.06. Кистозная опухоль медиальных отделов теменной области справа, незначительный перитуморальный отек, смещение срединных структур 0,4 см

Учитывая гетерогенную структуру образования, характер накопления контраста, локализацию опухоли в проекции тела и заднего рога бокового желудочка необходимо проводить дифференциальный диагноз между эпендимомой, астроцитомой или глиобластомой.

При ИКС сыворотки крови от 26.04.2006 получены результаты, соответствующие диагнозу «эпендилома» (таблица 9).

Таблица 9. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больного Н.

Значения отношений	0,35	0,11	0,2	0,19	1,09	0,27	0,87	0,1	0,11	0,42	0,12	0,19	2,49
$\text{см}^{-1} / \text{см}^{-1}$	1165/1160	1165/1070	1165/1150	1165/1140	1040/1070	1165/1130	1070/1025	1165/1050	1165/1025	1100/1050	1170/1150	1170/1160	1125/1165

Графически дифференциально-диагностический профиль эпендимомы представлен на рисунке 28. 05.05.06 – удаление опухоли. Результаты

гистологического обследования от 17.05.06. № 2897-2902 – анапластическая эпендимомма, степень анаплазии Grade III. (рисунок 29).

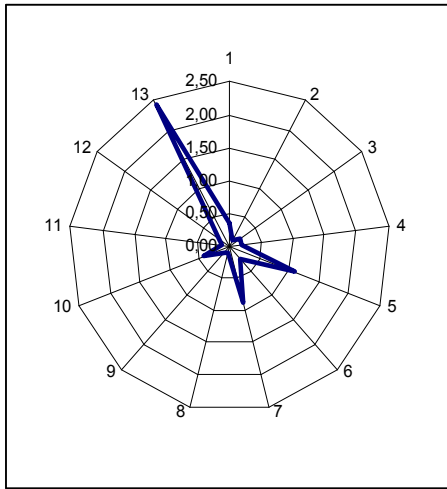


Рисунок 28.– Диаграмма дифференциально-диагностического профиля эпендимоммы больного Н.

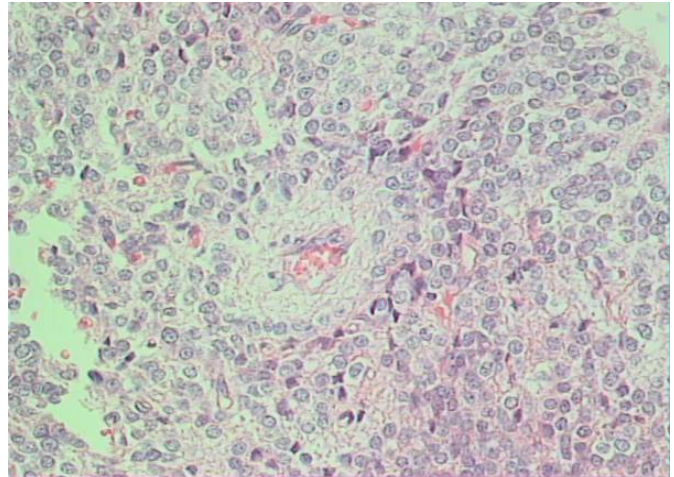


Рисунок 29.– Гистологический препарат эпендимоммы больного Н. Окраска гематоксиллин-эозин. Ув. X 400

Данный пример демонстрирует соответствие результатов дооперационной ИК спектроскопии сыворотки крови больной результатам гистологического исследования, когда была диагностирована анапластическая эпендимомма. По данным дооперационных МРТ однозначно верифицировать диагноз было невозможно.

Клинический пример № 9. Больная Д., 30 лет, и.б. № 1446. Находилась на лечении с 17.04.06 по 5.05.06. с диагнозом: внемозговая опухоль мостомозжечкового угла слева. Сопутствующей патологии не выявлено.

Жалобы при поступлении: головные боли, головокружение, шаткость походки, глухота слева, онемение на лице слева, поперхивание при еде.

Анамнез: слух стал снижаться около 4 лет тому, беспокоят нарастающие головные боли на протяжении 2 лет. За последний год стал прогрессивно снижаться слух. На протяжении последнего месяца состояние ухудшилось. Присоединилась шаткость походки, онемение на лице, нарушился почерк, появилось поперхивание при еде. Выполнена МРТ головного мозга, выявлена опухоль задней черепной ямки слева. Госпитализирована в нейрохирургическое отделение больницы № 39.

При поступлении неврологически: сознание ясное, гипестезия на лице слева, периферический парез 7 нерва слева, снижен глоточный рефлекс слева, анизорефлексия S>D, положителен верхний симптом Барре слева, неустойчива в позе Ромберга. Состояние по ШК – 70 баллов, ECOG 2 балла.

МРТ от 10.04.06 – опухоль мосто-мозжечкового угла слева размером 5,3X4,8X5,2см (рисунок 30). На глазном дне – признаков застоя не выявлено.

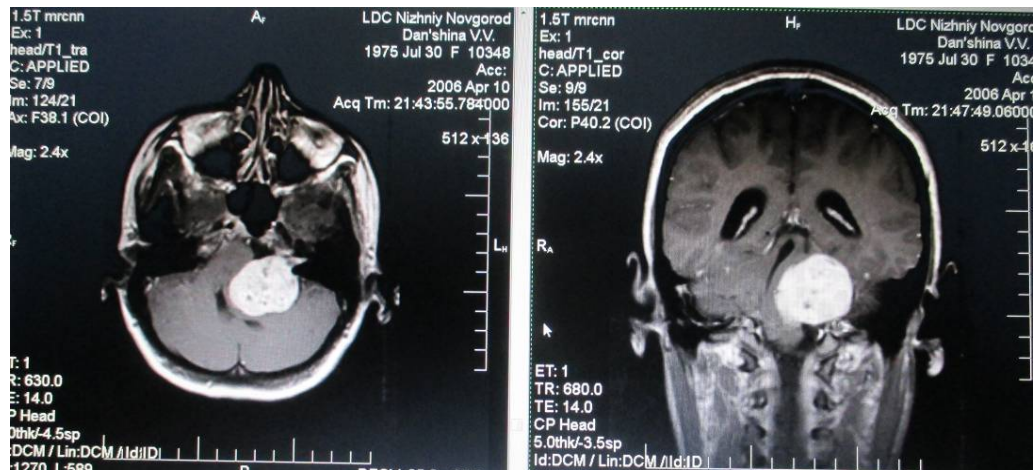


Рисунок 30. – МРТ больной Д. от 10.04.06. Опухоль мосто-мозжечкового угла слева, IV желудочек сдавлен. МР картина больше соответствует невриноме

При ИКС сыворотки крови от 19.04.2006 получены результаты, соответствующие диагнозу «невринома» (таблица 10).

Таблица 10. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больной Д.

Значения отношений	1165/1160	1165/1070	1165/1150	1165/1140	1040/1070	1165/1130	1070/1025	1165/1050	1165/1025	1100/1050	1170/1150	1170/1160	1125/1165
	0,54	0,4	0,49	0,42	0,93	0,95	1,18	0,41	0,47	0,44	0,05	0,05	0,81

Графически дифференциально-диагностический профиль невриномы представлен на рисунке 31.

Больная оперирована 20.04.06 – микрохирургическое удаление опухоли. Результаты гистологического исследования № 2897-2902 от 25.04.06 – невринома без признаков малигнизации (рисунок 32).

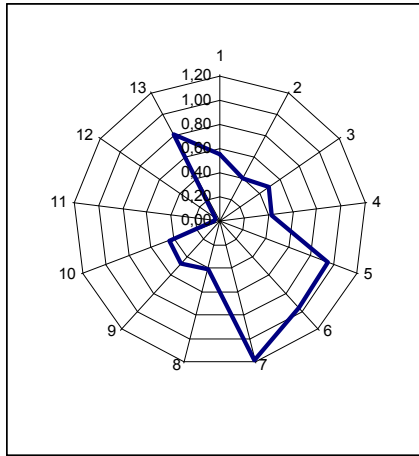


Рисунок 31. –Диаграмма дифференциально-диагностического профиля невриномы больной Д.

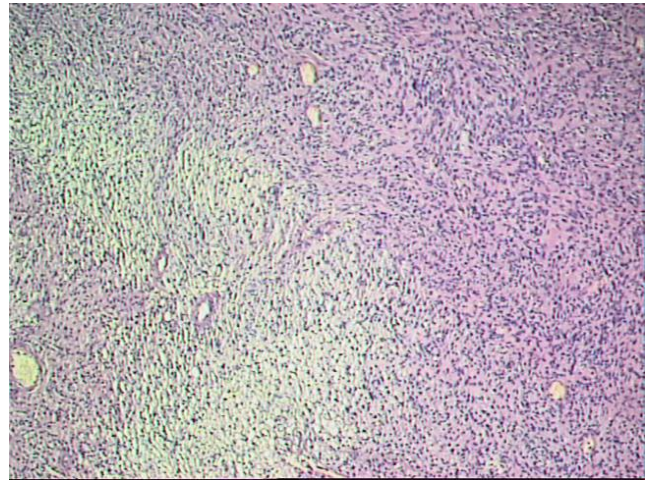


Рисунок 32. –Гистологический препарат невриномы больной Д. Окраска гематоксиллин-эозин. Ув. X 100

Данный пример демонстрирует соответствие результатов дооперационной ИКС сыворотки крови больной, в диагностике невриномы, данным МРТ и результатам гистологического исследования.

Клинический пример № 10. Больная Н., 63 г, и./б. № 1528, находилась на лечении с 2.05.06 по 23.05.06. с диагнозом: внемозговая опухоль затылочной доли справа. Сопутствующая патология – гипертоническая болезнь.

Жалобы при поступлении: выраженные головные боли преимущественно в затылочной области, снижение зрения.

Анамнез: беспокоят головные боли около 10 лет. На протяжении последнего года состояние narosла выраженность головной боли, больная отметила снижение зрения. Находилась на амбулаторном лечении по поводу гипертонической болезни. Проводилась медикаментозная терапия. Больная самостоятельно выполнила МРТ головного мозга, была выявлена опухоль и больная госпитализирована в нейрохирургическое отделение больницы №39.

При поступлении неврологически: сознание ясное, анизорефлексия S>D, положителен верхний симптом Барре слева. Состояние по ШК – 70 баллов,

ECOG 2 балла.

МРТ от 26.04.06 – опухоль затылочной области справа размером 6,8X5,6X6,2 см. (рисунок 33). На глазном дне – застой I степени по Е.Ж. Трону.

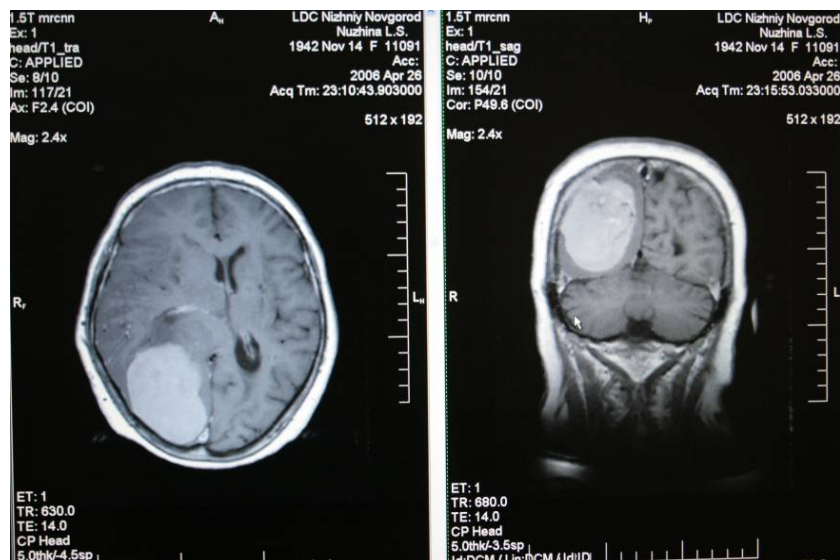


Рисунок 33. – МРТ больной Н. от 26.04.06. Опухоль затылочной области справа, смещение срединных структур на 0,8 см. МР картина больше соответствует менингиоме

При ИКС сыворотки крови от 12.05.2006 получены результаты, соответствующие диагнозу «менингиома» (таблица 11).

Таблица 11. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больной Д.

Значения отношений $\text{см}^{-1} / \text{см}^{-1}$	1165/1160	1165/1070	1165/1150	1165/1140	1040/1070	1165/1130	1070/1025	1165/1050	1165/1025	1100/1050	1170/1150	1170/1160	1125/1165
	0,39	0,32	0,38	0,34	1,08	0,53	0,96	0,34	0,33	0,39	0,1	0,14	1,17

Графически дифференциально-диагностический профиль менингиомы представлен на рисунке 34. 20.05.06 – микрохирургическое удаление опухоли. Результаты гистологического обследования № 3246-3251 от 04.06.06 – менингиома без признаков малигнизации (рисунок 35).

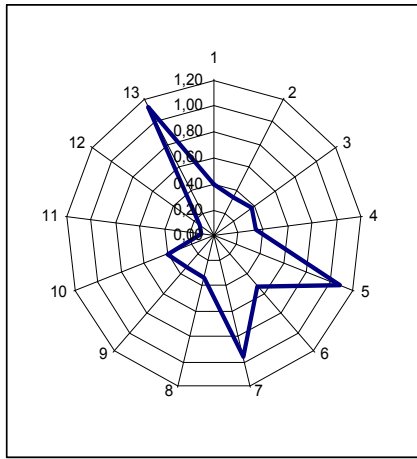


Рисунок 34. –Диаграмма дифференциально-диагностического профиля менингиомы больной Н.

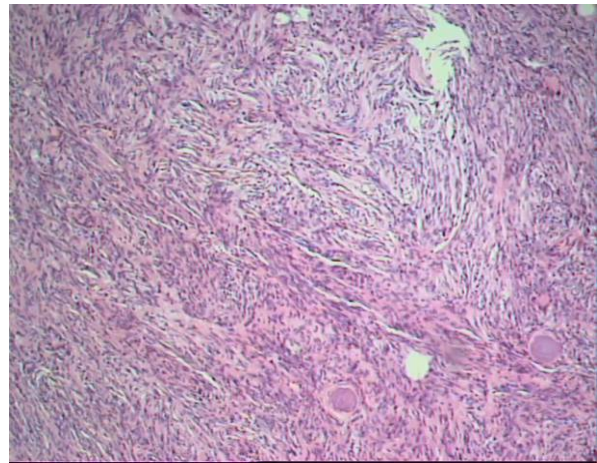


Рисунок 35. –Гистологический препарат менингиомы больной Н. Окраска гематоксиллин-эозин. Ув. X 100

Данный пример демонстрирует соответствие результатов дооперационной ИК спектроскопии сыворотки крови больной результатам гистологического исследования, данным МРТ, когда была диагностирована менингиома.

Совпадение расчетных тринадцати значений отношений пиков поглощения полос ИК спектров образца сыворотки крови пациента со значениями отношений того или иного эталонного профиля, или совпадение полученного дифференциально-диагностического графического профиля пациента с эталонным графическим профилем прогнозирует наличие у пациента опухоли головного мозга с определенным морфологическим характером.

Таким образом, для разных морфологических видов опухолей, опухолей с определенной степенью анаплазии, характерны определенные значения отношений пиков полос поглощения. По данной методике получен патент на изобретение № 2519151 от 11.04. 2014. «Способ дифференциальной диагностики новообразований головного мозга».

3.3 Инфракрасная спектроскопия в ранней диагностике продолженного роста и оценке эффективности лечения злокачественных опухолей головного мозга

Известно, что оставшиеся не удаленными после операции или не погибшие после химиолучевой терапии единичные опухолевые клетки или их небольшие группы, при активации распространяются вдоль кровеносных сосудов, по проводниковым путям мозга, вдоль базальных мембран мягких мозговых оболочек и их сосудов. Не проникая через базальные мембраны в просвет сосудов, опухолевые клетки продуцируют токсические вещества и ферменты, которые вызывают деструкцию самих опухолевых клеток или межклеточного матрикса, вызывают нарушение ГЭБ (Зозуля Ю.А., 2007; Улитин А.Ю., 2010; Nan X., 2014). Образующиеся при этом недоокисленные продукты или продукты жизнедеятельности опухолевых клеток – метаболиты или продукты распада разрушенных клеток вследствие нарушения ГЭБ попадают в сосудистое русло (Зозуля Ю.А., 2007). Таким образом, при рецидиве ЗОГМ в крови больного появляются специфические вещества, свидетельствующие об активации опухолевого процесса.

Нами проведено исследование возможностей ИКС сыворотки крови в ранней диагностике продолженного роста и оценке эффективности лечения ЗОГМ.

При анализе полученных результатов нами выявлено, что для определения продолженного роста опухолей необходимо проведение дополнительных исследований пиков полос поглощения, отличающихся у мужчин и женщин. Для этого мы определяли высоту пика полосы поглощения с максимумом 1125 см^{-1} и вычисляли значение отношения (индекс) высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} для мужчин и индекс высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1125 см^{-1} для женщин. Исследование образцов сыворотки крови пациентов осуществляли на 3-7 дни после проведенной операции по удалению новообразования. В последующем исследование сыворотки крови осуществляли в динамике 1 раз в 2-3 недели при опухолях Grade IV, 1 раз в 3-6 мес. при опухолях Grade I и Grade II. Методика забора крови и обработки материала проводилась по методике, описанной в главе 2.

Исследование проведено в группе 105 больных ЗОГМ, проходивших лечение в межобластном нейрохирургическом центре на базе МЛПУ городская клиническая больница № 39 г. Нижнего Новгорода, в онкологическом диспансере г. Нижнего Новгорода и в ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, онкодиспансере г. Нижнего Новгорода. Среди них мужчин было 53 (50,5%), женщин – 52 (49,5%). Из них с опухолями со степенью анаплазии Grade IV (глиобластомами) было 72 (68,6%), Grade III (астроцитомами) 23 (21,9%). Grade I-II – 10 (9,5%). Проведено 589 исследований, количеством от 2 до 28 у одного больного за весь период лечения и наблюдения за больным.

Проведенное исследование позволило выявить, что увеличение индекса ИКС, определяемого путем вычисления отношения высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} у мужчин и увеличение индекса отношения высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1125 см^{-1} у женщин на величину $0,5\pm0,015$ по сравнению с индексом, полученным в предыдущем исследовании образца, свидетельствует о наличии продолженного роста злокачественного новообразования головного мозга.

Полученные результаты исследования были подтверждены данными КТ или МРТ, выполняемыми в динамике, повторными оперативными вмешательствами с последующим гистологическим исследованием опухолей и данными катамнеза.

Исследования ИКС сыворотки крови, проводимые в динамике на фоне противоопухолевой терапии – химиолучевая или иммунотерапия, позволяют также оценить эффективность лечения. Так, повышение значения отношений, по сравнению с предыдущим обследованием свидетельствует о наличии продолженного роста опухоли на фоне проводимой терапии. При снижении показателей значения отношений, или наличии изменений не более $0,5\pm0,015$, по сравнению с предыдущим обследованием, свидетельствовало об эффективности проводимой противоопухолевой терапии или стабилизации процесса.

Исследуя в динамике результаты ИК спектроскопии сыворотки крови больных, можно на раннем этапе диагностировать продолженный рост опухолей,

что позволяет оценивать и прогнозировать эффективность проводимой противоопухолевой терапии больных ЗОГМ.

Для более наглядной оценки результатов ИК спектроскопии в динамике, результаты обследования представлены в сравнении с нормой. Из полученных данных обследования 28 здоровых добровольцев, принятых за норму мы определили выборочную среднюю по формуле

Для мужчин соотношения 1150 см^{-1} к высоте пика 1130 см^{-1} и для женщин соотношения 1150 см^{-1} к 1125 см^{-1} выборочная средняя равна 0,701 у мужчин и 1,085 у женщин соответственно при значении среднеквадратического отклонения 0,272 у мужчин и 0,423 у женщин соответственно.

Таким образом, границы нормы отражались в одномерной плоскости, где ось абсцисс это дата обследования, а ось ординат соответствует числовому выражению значений отношений (индекса ИКС). На графиках отражено в виде прерывистых линий с границами у мужчин 0,973 и 0,429, и у женщин 1,508 и 0,662. Красной линией отражены изменения значений отношений больных (рисунки 41, 55, 60).

Нами выявлено, что при эффективности проводимой терапии, отмечается снижение индекса ИКС и приближение их к норме. Повышение индекса свидетельствует об отсутствии эффекта от терапии и продолженном росте опухоли, что позже подтверждалось изменениями на МРТ или КТ и клиническими проявлениями заболевания.

Проводя ИКС исследование в динамике, мы сравнивали полученные результаты с данными МРТ с контрастным усилением в 82 случаях (93,2%), ПЭТ-КТ с метионином в 6 случаях (6,8%), при выполнении повторных оперативных

вмешательств с результатами гистологического исследования. Было выявлено, что при опухолях Grade III, IV в среднем за 24 (10; 45) дня до появления изменений на МРТ, в крови уже происходят изменения, регистрируемые с помощью ИКС и свидетельствующие об активации опухолевого процесса. При опухолях Grade I-II в среднем за 4,4 (1; 8) месяца наблюдались подобные изменения. При этом чувствительность метода ИКС в ранней диагностике продолженного роста опухолей составляет 90,39%, специфичность 81,25%.

В приведенных клинических примерах продемонстрирована ранняя диагностика продолженного роста ЗОГМ и оценка эффективности лечения больных ЗОГМ при использовании метода ИКС сыворотки крови больных.

Клинический пример № 11. Больной А., 53 г., и./б. № 3150, находился с 25.05.07 по 18.06. 2007 г. диагноз: продолженный рост опухоли (эпендимомы) теменно-затылочной области слева, состояние после удаления опухоли (2006 г.).

Жалобы при поступлении: головная боль, нарушение речи, нарушение движений в правых конечностях.

Анамнез: впервые оперирован по поводу эпендимомы с малигнизацией в сентябре 2006 г. Ухудшение состояния с апреля 2007 г., когда появились вышеуказанные жалобы.

При поступлении в неврологическом статусе: сенсорная афазия, правосторонний гемипарез, сила в конечностях снижена до 4 баллов. Состояние по шкале Карновского 60 баллов.

Описанным выше способом 28.05.07 впервые был исследован образец сыворотки крови больного. Индекс высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} составил 5,6 (таблица 9). По данным МРТ головного мозга от 28.05.07, выявлен продолженный рост опухоли (рисунок 36).

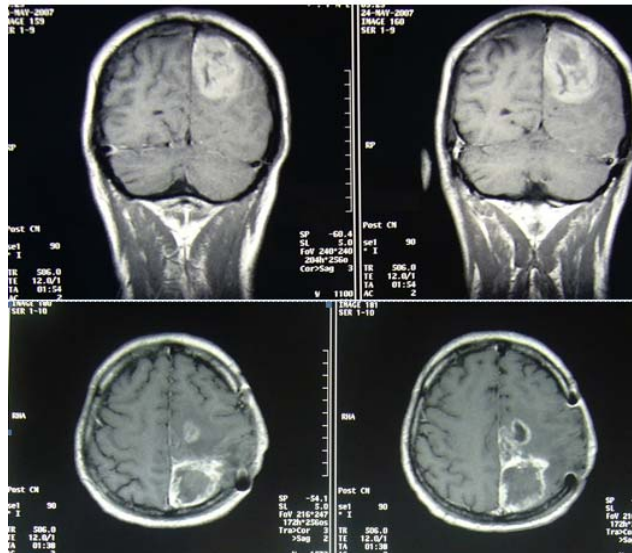


Рисунок 36. – МРТ больного А. от 24.05.07. Продолженный рост опухоли

31.05.07 – удаление опухоли. Гистологическое заключение - глиобластома с эпендимарным компонентом, степень злокачественности 4.

На 7-й день после операции (8.06.07), выполнена ИКС сыворотки крови. Индекс составил 1,89.

При КТ обследовании перед курсом лучевой терапии от 18.07.07 – состояние после удаления опухоли (рисунок 37). Данных за продолженный рост опухоли не получено.

После операции, с 23.07.07 по 21.08.07, больной получил курс лучевой терапии СОД 44 Гр. Состояние по шкале Карновского улучшилось и составило 70 баллов.



Рисунок 37. – КТ больного А. от 18.07.07 без контрастного усиления – состояние после удаления опухоли

В послеоперационном периоде с помощью ИКС сыворотки крови в динамике проводилось исследование значений отношений высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} . Результаты приведены в таблице 12.

Таблица 12. – Значения отношений (индекс) высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} , к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} полученные при исследовании образцов сыворотки крови больного А. в динамике

Дата исследования	28.05.07	07.06.07	23.08.07	13.09.07	16.10.07	15.12.07	18.01.08	20.02.08	31.03.08	29.04.08	20.05.08
Индекс	3,11	1,88	2,29	2,81	2,73	2,25	2,14	1,63	2,11	2,31	2,42

При ИКС от 23.08.07 индекс составил 2,29. Несмотря на то, что больной только закончил курс лучевой терапии, отмечено его повышение по сравнению с предыдущим обследованием на 0,4. При ИКС от 13.09.07 индекс составил 2,80, что на 0,51 больше предыдущего обследования, это позволило судить о наличии продолженного роста опухоли головного мозга у больного после лучевой терапии. Продолженный рост опухоли был подтвержден результатами МРТ от 15.09.07 (рисунок 38). Состояние больного было стабильным, по шкале Карновского составляло 70 баллов.

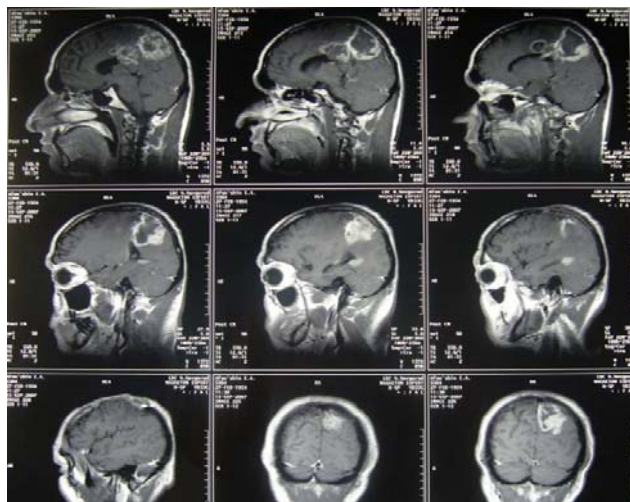


Рисунок 38. – МРТ больного А. от 15.09.07. Продолженный рост опухоли теменной области слева

На основании результатов обследования больному назначено четыре курса химиотерапии препаратом темодал, который больной начал получать с 1.10.07. В дальнейшем на фоне химиотерапии, по данным ИКС наблюдалось постепенное снижение значений отношений от 2,80 (13.09.07) до 1,63 (20.02.08) (таблица 12). Клинически состояние больного также постепенно улучшилось. Состояние по шкале Карновского 80 баллов на протяжении 3 месяцев.

Через 3 месяца после окончания химиотерапии 31.03.08 вновь отмечено повышение значения отношений по сравнению с предыдущим обследованием на 0,49, что в абсолютном значении составило 2,12. Клинически состояние больного также ухудшилось. Постепенно выросла общая слабость, головная боль. Больной стал вялым, адинамичным, появились нарушения критики. Состояние по шкале Карновского составило 50 баллов. Это позволило судить о продолженном росте злокачественного новообразования головного мозга. В то же время, выполненное МРТ обследование с контрастным усилением от 13.05.08 опухоли не выявило (рисунок 39).

Отсутствие опухоли по данным МРТ оцениваются как полный ответ на проведенную химиотерапию темодалом. Определялся отек в зоне операции и отек перивентрикулярно. Вместе с тем увеличение индекса по данным ИКС свидетельствовали об обратном – наличии продолженного роста опухоли.

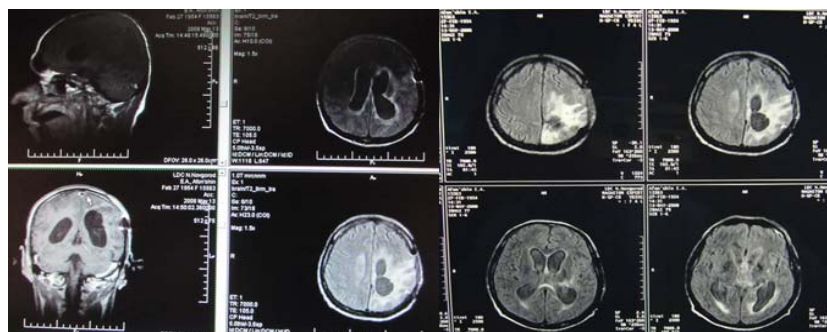


Рис 39. МРТ – от 13.05.08. Данных за продолженный рост опухоли не выявлено. Определяется отек в зоне операции и перивентрикулярный отек

В связи с отсутствием данных за продолженный рост опухоли по МРТ, противоопухолевая терапия не проводилась. Состояние пациента прогрессивно

ухудшалось. Больной получал симптоматическую терапию в стационаре и умер 24.05.08. При патолого-анатомическом исследовании морфологически выявлено распространение опухоли (глиобластомы) по стенкам желудочков головного мозга и киста в зоне операции (рисунок 40).

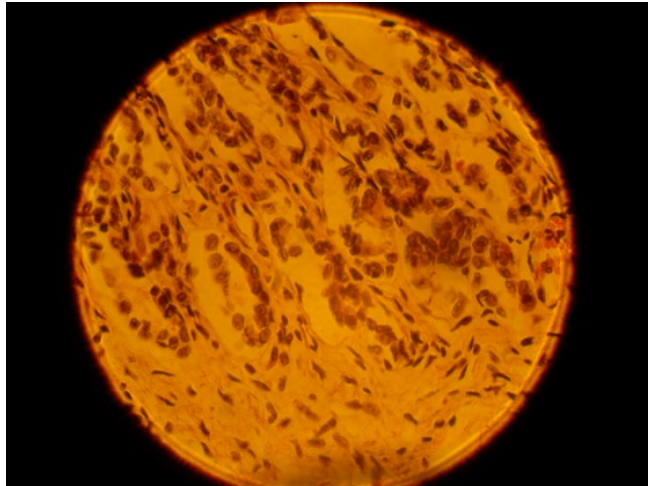


Рисунок 40. – Гистологический препарат от 24.05.08. Диссеминация глиобластомы по стенкам желудочков. Окраска гематоксилин – эозин, увеличение X 400

Параллельно с ИКС сыворотки крови пациент был обследован с помощью МРТ. Результаты исследования, полученные при ИКС сыворотки крови и МРТ, совпадали в динамике. Однако последние результаты ИКС и МРТ не совпали. Данные ИКС были более информативны и подтверждены при гистологическом исследовании секционного материала. Результаты изменений значений отношений при ИКС исследованиях сыворотки крови больного А. представлены на диаграмме (рисунок 41).

Данный пример демонстрирует более высокую информативность ИКС сыворотки крови больного в плане ранней диагностики продолженного роста опухоли, по сравнению с МРТ с контрастным усилением. Значения отношений ИКС свидетельствовали о наличии продолженного роста опухоли, однако по данным МРТ продолженный рост опухоли не определялся. Результаты секционного исследования подтвердили наличие продолженного роста опухоли.

Результаты
МРТ:

Лечение:

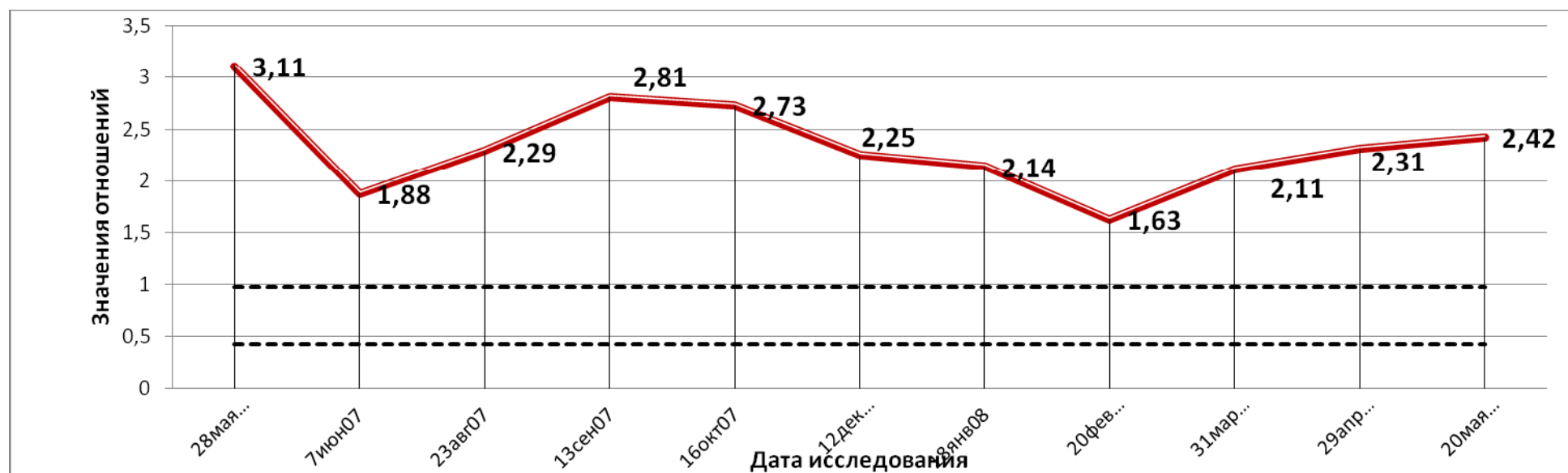


Рисунок 41.– Диаграмма изменений значений отношений высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} , полученные при исследовании образцов сыворотки крови больного А. за период с 28.05.07 по 24.05.08. на фоне противоопухолевой терапии и результатов МРТ

При поступлении в неврологическом статусе: без грубой симптоматики. Определялся слабо положителен нижний симптом Барре слева, анизорефлексия $S > D$ с ног.

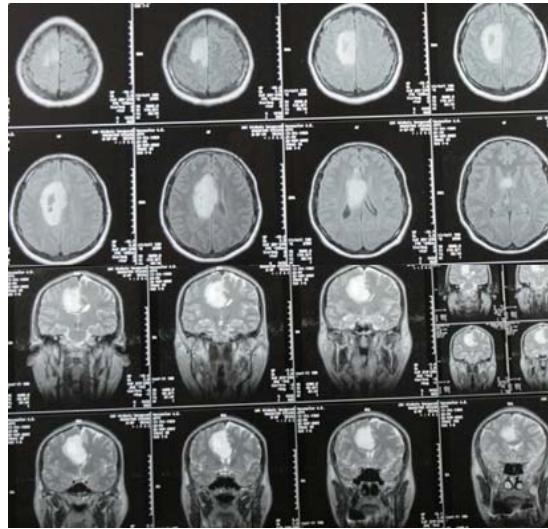


Рисунок 42. – МРТ от 26.11.05 – кистозно-солидное объемное образование медиальных отделов лобно-теменной области справа

Описанным выше способом с помощью ИК спектроскопии сыворотки крови в дооперационном периоде 2.12.05 впервые больному проводилось исследование значений отношений высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} , которое составило 3,35, что коррелировало с результатами МРТ от 26.11.05, когда впервые у больного была выявлена опухоль. Оперирован – субтотальное удаление опухоли. Гистологическое заключение: олигодендроглиома. Степень злокачественности I-II. МРТ от 25.12.05 – состояние после субтотального удаления опухоли (рисунок 43).

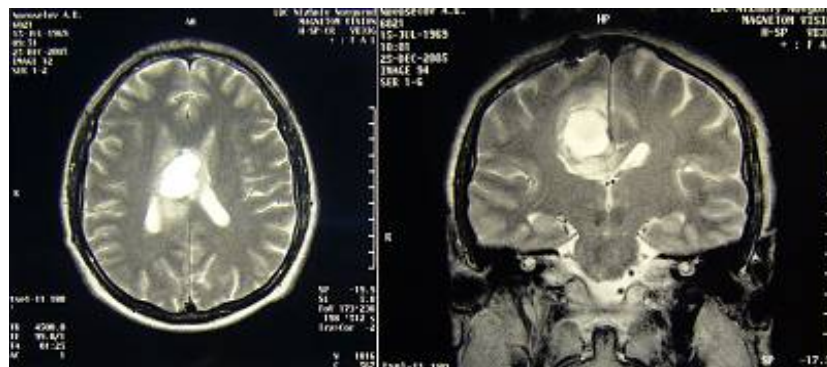


Рисунок 43. – МРТ головного мозга больного Н. от 25.12.05 - состояние после субтотального удаления опухоли медиальных отделов задне-лобно-теменной области. Гематома в ложе опухоли

Противоопухолевая терапия больному не проводилась. В послеоперационном периоде в динамике, на протяжении 8 лет с частотой 1 раз в 4-9 мес. до настоящего периода проводится исследования ИКС сыворотки крови. Результаты приведены в таблице 13. Больному также выполняется МРТ исследование головного мозга с частотой 1 раз 8-12 мес.

Таблица 13. – Значения отношений высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} , полученные при исследовании образцов сыворотки крови больного Н. в динамике

Дата исслед ования	02. 12. 05	13. 12. 05	15. 01. 06	1. 06. 06	01. 02. 07	13. 11. 07	5. 05. 08	15. 01. 09	20. 09. 09	09. 12. 11	18. 01. 12	16. 07. 12	29. 10. 12	10. 01. 13	12. 04. 13
Индекс	3,35	1,56	1,93	3,29	1,69	2,0	2,04	2,54	2,66	3,36	2,1	1,33	1,47	0,95	0,7

При обследовании больного с помощью ИК спектроскопии в послеоперационном периоде от 13.12.05 значение отношений 1150 к 1130 см^{-1} снизилось по сравнению с дооперационным результатом, приблизилось к нормальным показателям и составило 1,56.

Данные ИКС коррелировали с результатами МРТ. Так, по МРТ от 25.12.05 – состояние после субтотального удаления опухоли, гематома в ложе опухоли. В динамике по данным от 15.01.06 выявлено, что индекс ИКС несколько увеличился по сравнению с послеоперационными данными и составил 1,93. От 1.06.06 отмечено значительное нарастание индекса, который составил 3,29, что свидетельствовало о продолженном росте опухоли. Полученные данные также коррелировали с результатами проводимых МРТ исследований. Так при МРТ от 1.06.2006 г, отмечен продолженный рост опухоли, появление признаков распространения опухоли на медиальные отделы лобной и теменно-затылочной областей справа (рисунок 44).

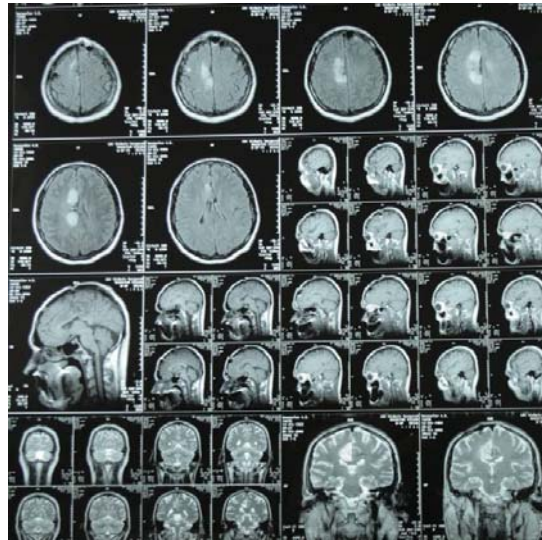


Рисунок 44. – МРТ от 1.06.2006г. Продолженный рост опухоли с распространением в медиальные отделы лобной и теменной доли справа

У больного было подряд несколько фокальных эпилептических приступов в левой ноге. Больной консультирован онкологом, с учетом гистологического диагноза (Grade I-II) с 10.08.2006 г. получал сегидрин по схеме: по 1т 3 р. в день 1 мес., перерыв 2 нед., курсы сегидрина назначены в количестве 6 с рекомендациями увеличивать перерыв между приемом препарата на 1 нед. со следующего курса, но не больше 4 нед. Больной также получал химиотерапию препаратом ломустином 4 курса и противосудорожную терапию. Указанную терапию больной получал на протяжении 6 мес. Фокальных судорог за этот период не было. Редко, с частотой 1 раз в 2-3 мес., больного беспокоили приступы слабости в ноге слева. При ИКС сыворотки крови в конце химиотерапии ломустином от 01.02.07 отмечено существенное снижение значений отношений по сравнению с результатами предыдущего обследования и составило 1,69. При ИКС через 9 мес. после предыдущего обследования, от 13.11.07, вновь отмечено незначительное увеличение значений отношений по сравнению с предыдущим результатом, которое составило 2,0. По данным ИКС от 5.05.08, индекс оставался практически в тех же пределах и составил 2,04. Полученные данные коррелировали с результатами МРТ в динамике от 16.04.2007 и 15.05.2008 г, когда результаты обследования практически не отличались друг от друга. Отмечалась сходная картина с данными МРТ от 1.06.2006 г. Явных данных за продолженный рост опухоли не выявлено. Диагностирована стабилизация процесса (рисунок 45, 46).

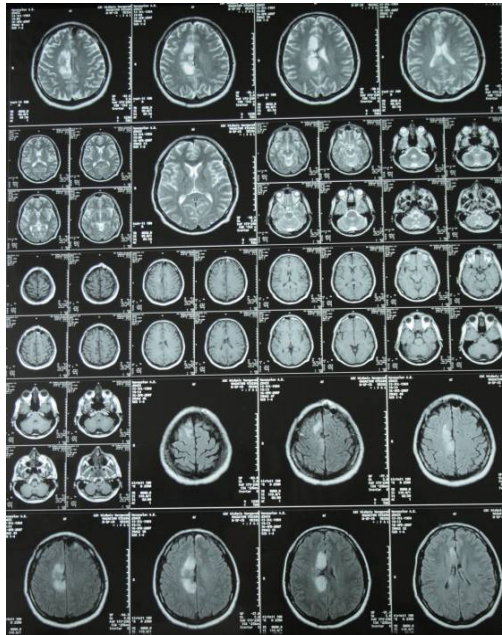


Рисунок 45. – МРТ от 16.04.2007. Продолженный рост опухоли в медиальные отделы лобной и теменной долей справа. По сравнению с предыдущей МРТ от 1.06.2006. без динамики

Таким образом, в период с 13.01.2007 по 15.05.2008 отмечалось постепенное незначительное повышение значений ИКС. В целом картина соответствовала данным МРТ, когда была выявлена стабилизация процесса. Клинически состояние больного не изменялось. При ИКС от 15.01.09 отмечено дальнейшее значительное увеличения значений отношений, которое составило 2,54, что на 0,5 превышало результаты предыдущего ИКС, что свидетельствовало о продолженном росте опухоли.

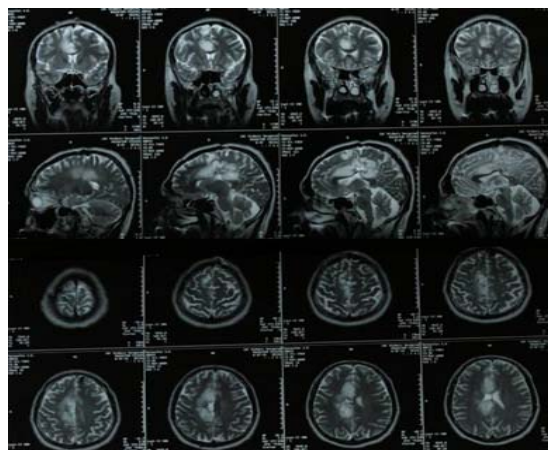


Рисунок 46.– МРТ от 15.05.2008 г Продолженный рост опухоли в медиальные отделы лобной и теменной долей справа. По сравнению с предыдущей МРТ- без существенной динамики

Однако по данным МРТ от 10.01.2009 г, значительного ухудшения по сравнению с результатами предыдущих обследования выявлено не было (рисунок 47).

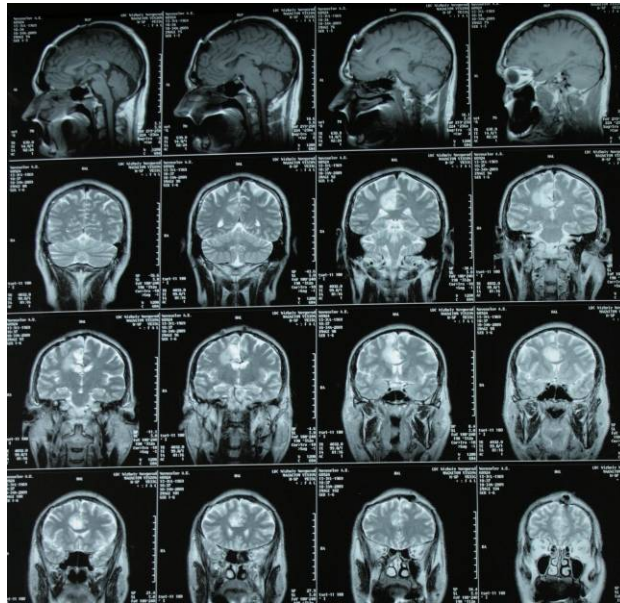


Рисунок 47. – МРТ от 10.01.2009 г. Продолженный рост опухоли в медиальных отделах лобной и теменной долей справа. По сравнению с предыдущей МРТ- без ухудшения

Данные МРТ мало отличались от результатов предыдущих МРТ от 2006-2008 гг. Клинически состояние больного также не ухудшалось. Больной работал, состояние по шкале Карновского -100 баллов, противоопухолевая терапия не проводилась. Однако при ИКС от 20.09.09 отмечено дальнейшее увеличение значений отношений по сравнению с предыдущим обследованием и составило 2,667, что свидетельствовало о нарастании активации роста опухоли. Результаты ИКС были подтверждены при МРТ от 26.10.2009, когда было выявлено увеличение размеров образований в медиальных отделах лобной и теменно-затылочной областях, появились признаки третьего опухолевого очага в медиальных отделах теменной доли (рисунок 48).

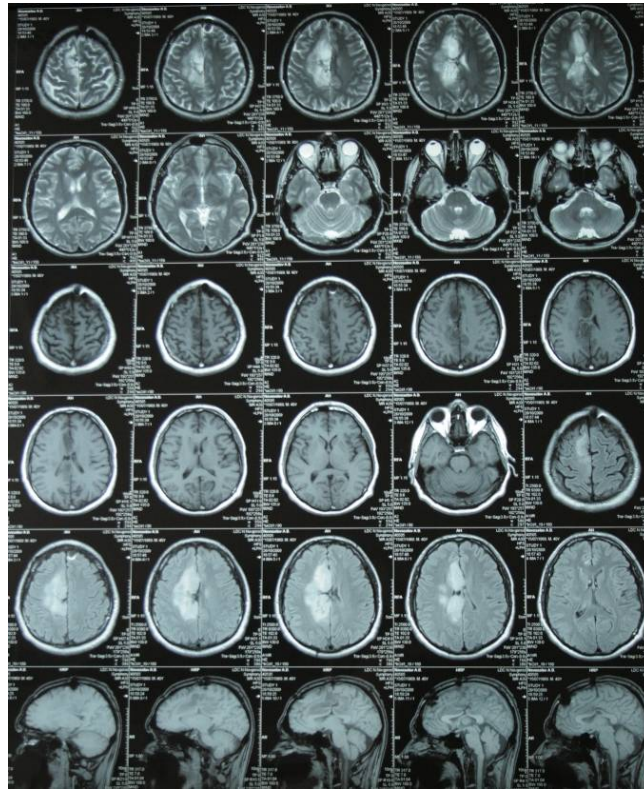


Рисунок 48. – МРТ от 26.10.2009 г. Продолженный рост опухоли в медиальные отделы лобной и теменной долей справа. По сравнению с предыдущей МРТ-отрицательная динамика в виде увеличения размеров опухоли в медиальных отделах теменной доли

Клинически состояние больного в этот период также не ухудшалось. Новых жалоб не было, больной продолжал работать.

Таким образом, ИКС, в данный период наблюдения, позволила диагностировать продолженный рост опухоли до его проявления на МРТ и до клинических проявлений заболевания. Несмотря на отрицательную динамику по данным ИК спектроскопии и МРТ, клинически состояние больного было стабильным. Больной не обращался в клинику 24 мес. В связи с ухудшением состояния в виде учащения приступов слабости в левой ноге и нарастания их выраженности, больной 02.12.11 самостоятельно выполнил МРТ и с результатами обратился в клинику. По данным МРТ – продолженный рост опухоли, по сравнению с предыдущей МРТ от 26.10.2009 – отрицательная динамика в виде увеличения размеров опухолевых узлов (рисунок 49).

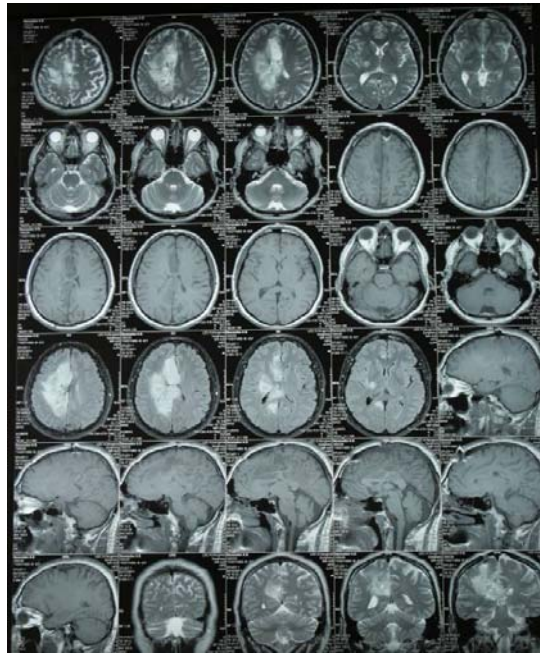


Рисунок 49. – МРТ от 2.12.2011 г. Продолженный рост опухоли в медиальные отделы лобной и теменной долей справа. По сравнению с предыдущей МРТ- отрицательная динамика в виде увеличения размеров опухоли в медиальных отделах теменной доли

По данным ИКС от 9.12.11, выполненное после МРТ, выявлено дальнейшее, по сравнению с предыдущим обследованием, нарастание значения отношения, которое составило 3,364. Полученные результаты коррелировали с данными МРТ от 2.12.11, когда у больного была выявлена отрицательная динамика в виде увеличения размеров образования по сравнению с МРТ от 10.01.2009. Больной повторно 17.01.2012 г выполнил МРТ и МРТ спектроскопию (рисунок 50, 51). Ее результаты соответствовали МРТ от 2.12.2011.

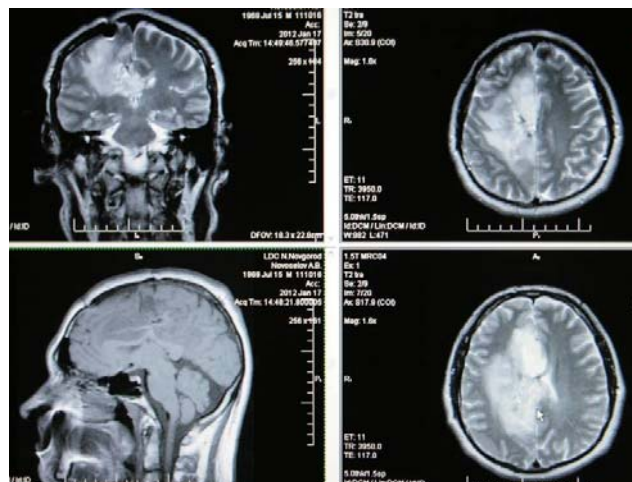


Рисунок 50. – МРТ от 17.01.2012 г. МРТ картина соответствует данным МРТ от 2.12.11

По данным МР спектроскопии – продолженный рост опухоли медиальных отделов теменной доли (Grade II-III). Отмечается повышение пика Cho, умеренное снижение пика NAA, повышение пика Lac. Индексы Cho/Cr, Cho/NAA повышены до 1,05-5,11 и 0,39-4,91 соответственно, повышен также индекс Lac/Cr до 1,57-7,97 (рисунок 51).

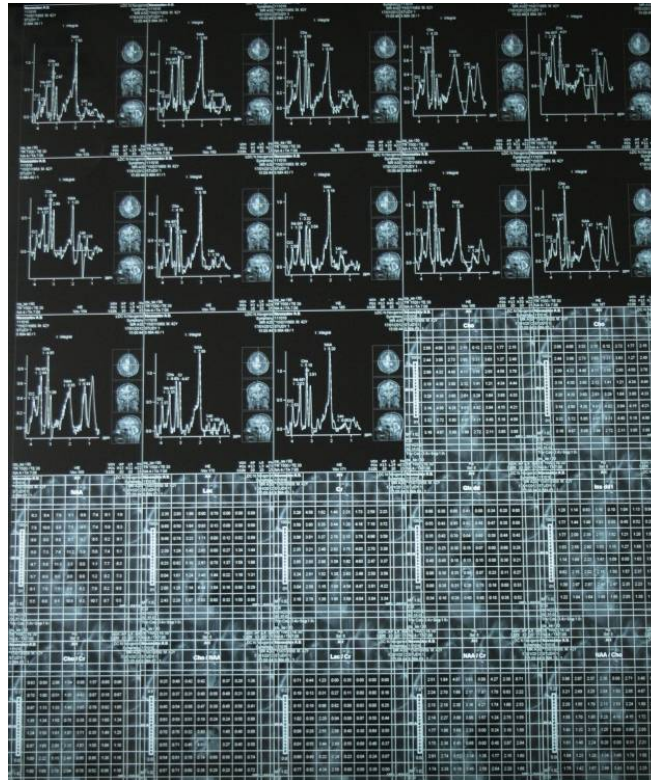


Рисунок 51. – Протонная магниторезонансная спектроскопия от 17.01.2012. Продолженный рост опухоли медиальных отделов теменной доли (Grade II-III)

При обследовании от 18.01.12 индекс ИКС снизился по сравнению с обследованием от 9.12.11 и составил 2,095. Однако оставался повышенным, и соответствовало результатам 2008-2009 гг., когда по данным ИКС отмечалась постепенная отрицательная динамика.

В связи с продолженным ростом опухоли и нарастанием клинических проявлений заболевания, больной был повторно оперирован 19.01.2012г. В послеоперационном периоде, по данным КТ от 20.01.12. опухоль в области мозолистого тела и медиальных отделов теменной доли удалена, в области колена и валика мозолистого тела – остатки опухоли.

При иммуногистохимическом обследовании установлен диагноз олигодендроглиомы, степень анаплазии GrIII. При молекулярно-генетическом исследовании опухоли методом ПЦР-анализа микросателлитных маркеров D1S3669, D1S1635, D1S407, D19S400, D19S562, D19S559 была выявлена сочетанная делеция областей 1p/19q. С учетом полученных результатов больной в 2012 г получил 6 курсов полихимиотерапии по схеме PCV. На фоне полихимиотерапии больной получил 3 курса СИ на основе аутологичных дендритных клеток, состоящей из 2-4 введений 1 раз в неделю и перерыва между курсами введения в 1,5-2 мес.

При ИКС от 16.07.12 отмечена положительная динамика в виде существенного снижения значения отношений до 1,333, по сравнению с предыдущим результатом от 18.01.12. Эти данные коррелировали с результатами МРТ от 25.07.12 (рисунок 52) когда также было отмечено уменьшение размеров опухоли по сравнению с послеоперационными МРТ от 17.01.2012 г.

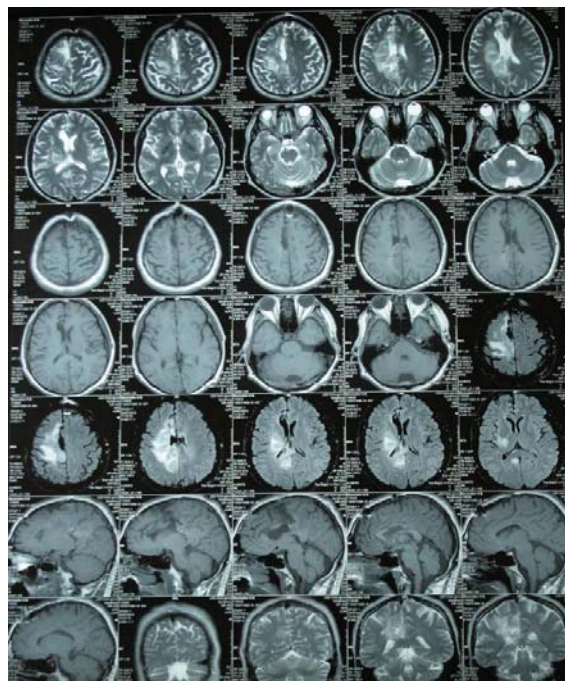


Рисунок 52. – МРТ от 25.07.2012 г. Отмечается положительная динамика в виде уменьшения образования по сравнению с МРТ от 2.12.11.

При обследовании от 29.10.12 индекс ИКС мало отличался от предыдущего результата и составил 1,478. Больной с 29.10.12 получал 3 курса ХТ ломустином и 4 курса СИ. После терапии, при обследовании от 10.01.13 отмечено значительное снижение индекса ИКС, который оставил 0,952. Больной после лечения субъективно также отмечал значительное улучшение состояния. Регрессировали полностью сохраняющиеся в послеоперационном периоде приступы слабости в ноге, исчезла общая слабость, больной стал работать. При МРТ от 21.01.13 (рисунок 53) также отмечена положительная динамика в виде уменьшения размеров опухоли по сравнению с МРТ от 25.07.12.

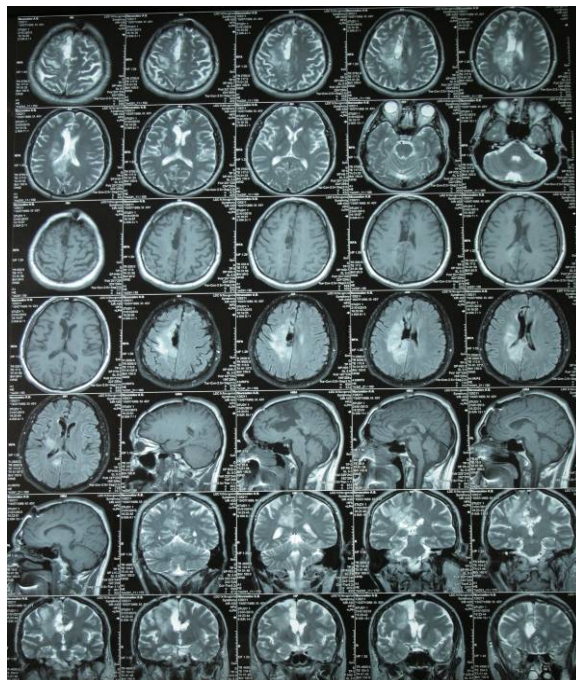


Рисунок 53. – МРТ от 21.01.2013 г. Положительная динамика в виде незначительного уменьшения размеров образования по сравнению с предыдущим МРТ

Летом 2013 г пациент получил 2 курса СИ с перерывом в 2 мес., состоящих из 1 курса в 4 введения, 1 курса - 3 введения. На фоне проводимого лечения в 2013 г результаты значений отношений ИКС больного постепенно снижались и составили при ИКС от 12.04.13 - 0,705, от 11.07.13 – 0,51. Результаты ИК спектроскопии свидетельствовали об отсутствии данных за активацию опухолевого процесса и эффективности проводимой в тот период терапии и

соответствовали результатам МРТ от 25.09.13, когда была также диагностирована стабилизация процесса (рисунок 54).

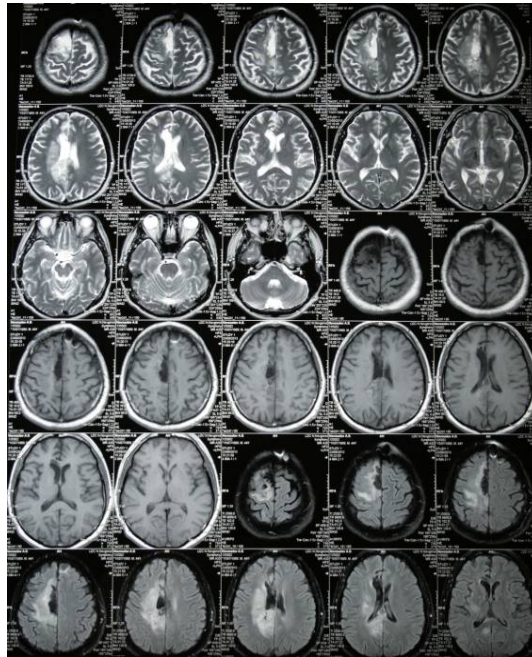


Рисунок 54. – МРТ от 23.09.2013 г. По сравнению с МРТ от 21.01.13 выявляется положительная динамика в виде незначительного уменьшения размеров образования и отека

Параллельно с ИКС сыворотки крови пациент был обследован с помощью МРТ. Результаты исследования, полученные при ИКС сыворотки крови и МРТ, совпадали в динамике на протяжении всего периода наблюдения и лечения больного. Результаты изменений значений отношений при ИКС исследованиях сыворотки крови больного Н. представлены на диаграмме (рисунок 55).

Приведенные примеры показывают, что при прогрессировании опухолевого процесса по данным ИКС на раннем этапе, за 1-3 месяца до клинических проявлений ухудшения состояния и до появления признаков продолженного роста по МРТ отмечается увеличение значений отношений по отношению к предыдущим результатам и выборочному среднему по группе здоровых. При эффективности проводимой терапии также наблюдается снижение значений отношений по сравнению с предыдущими результатами и приближение результатов ИК спектроскопии крови к выборочному среднему по группе здоровых.

Результаты

МРТ:

Лечение

больного:



Рисунок 55. – Диаграмма изменений значения отношения высоты пиков с максимумом 1150 см^{-1} к 1130 см^{-1} , полученные при исследовании образцов сыворотки крови больного Н. за период со 2.12.2005 по 12.04. 2013. на фоне противоопухолевой терапии и результатов МРТ

Клинический пример № 13. Больная Г., 47 лет, и/б № 1097, находилась на лечении с 20.02.07 по 9.03.07. Диагноз: внутримозговая опухоль задне-лобно-теменной области слева.

При поступлении жалоб не предъявляла из-за тяжести состояния.

Анамнез: 5 января впервые в жизни возник эпилептический приступ. В конце января отметила торможение мышления, появились нарушения речи. На МРТ выявлена опухоль головного мозга и больная направлена на лечение в б-цу №39.

Неврологически: сознание на уровне оглушения 1-2, сенсомоторная афазия, неадекватна, дезориентирована, не критична, центральный парез VII нерва справа, правосторонний легкий гемипарез, ШКГ 40 баллов, ECOG 4 балла.

МРТ головного мозга от 10.02.07 определяется опухоль размерами 5,1X4,7X4,6 см в задне-лобно-теменной области слева (рисунок 56).

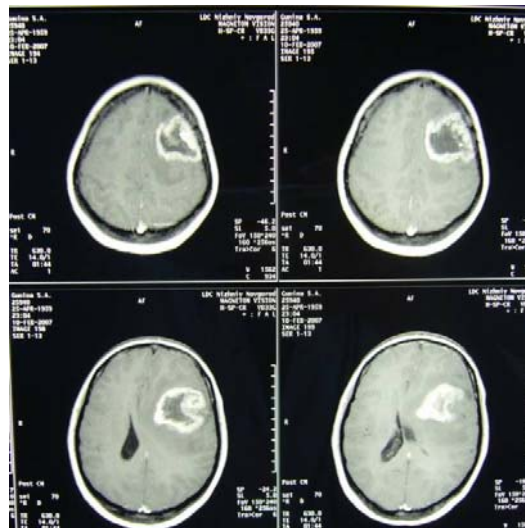


Рисунок 56. – МРТ больной Г. от 10.02.07. Объемное образование задне-лобно-теменной области слева

Описанным выше способом 21.02.07 впервые был исследован образец сыворотки крови больной. Значение отношения высоты пика с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1125 см^{-1} составило 2,56 (таблица 14).

Больная оперирована 22.02.07 субтотальное удаление опухоли. После операции положительная динамика в виде регресса исходной симптоматики, но сохранялась умеренная сенсорная афазия.

Гистологическое исследование № 1170 от 5.03.07 – глиобластома. Степень

злокачественности IV.

В дальнейшем исследование образцов сыворотки крови больной предлагаемым способом осуществляли ежемесячно (таблица 14).

Таблица 14. – Значения отношений высоты пика с максимумом 1150 см⁻¹, к высоте пика с максимумом 1125 см⁻¹ полученные при исследовании образца сыворотки крови больной Г. в динамике

Дата исследования	21.02.07	1.03.07	20.04.07	20.06.07	05.09.07	27.11.07
Индекс	2,56	2,29	6,78	1,43	3,15	4

Индекс ИКС в послеоперационном периоде от 1.03.07 составил 2,29. По данным КТ контроля от 02.03.07, опухоли в зоне операции не выявлено (рисунок 57).

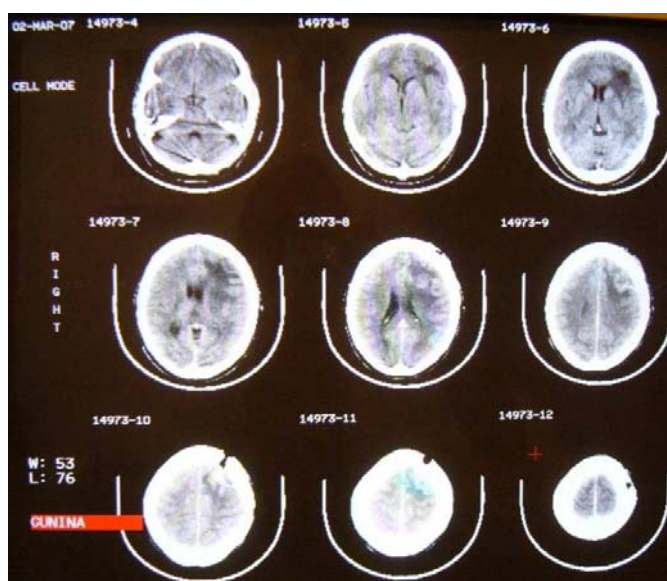


Рисунок 57. – КТ больной Г. от 02.03.07. Состояние после удаления опухоли

В послеоперационном периоде, с 5.03.07 по 8.03.07, перед лучевой терапией больная получила курс интракаротидной ПХТ по схеме: этопозид 100 мг/м² в 1-3 день+ цисплатин 100 мг/м² в 1й день.

Через 4 недели после ПХТ в апреле больная получила курс лучевой терапии СОД 60 Гр. На фоне лучевой терапии индекс ИКС от 20.04.2013 составил 6,78. Через три недели после завершения лучевой терапии индекс от 20.05.07 составил

1,48. От 20.06.07 индекс ИКС несколько увеличился и составил 1,61. По данным МРТ от 21.06.07, данных за продолженный рост опухоли выявлено не было. Однако в зоне операции отмечался локальный отек (рисунок 58).

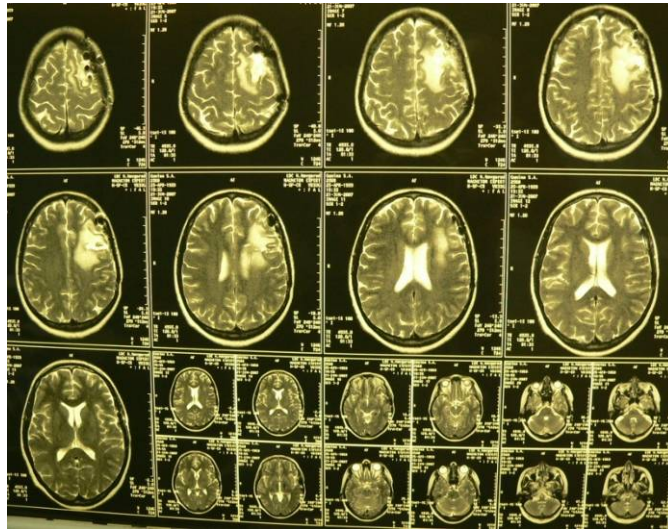


Рисунок 58. – МРТ больной Г. от 21.06.07. Данных за продолженный рост опухоли не выявлено

Состояние больной по шкале Карновского в период до ноября 2007г составляло 100 баллов. Больна работала. Через несколько месяцев вновь появилась головная боль. При исследовании крови от 5.09.2007 отмечено значительное увеличение индекса ИКС, который составил 3,15. МРТ в силу субъективных причин выполнено не было. С начала ноября состояние больной стало прогрессивно ухудшаться. В связи с ухудшением состояния в виде нарастания головной боли, появления координаторных нарушений, больная обратилась в клинику 26.11.07. При ИК спектроскопии крови от 27.11.07 выявлено дальнейшее нарастание индекса до 4, что на 0,85 выше предыдущего обследования. Это позволило судить о продолженном росте злокачественного новообразования головного мозга в послеоперационном периоде. Диагноз продолженного роста опухоли был подтвержден данными МРТ от 27.11.07. По данным МРТ, выявлено метастазирование опухолевого процесса в оба полушария и субтенториально в червь и правое полушарие мозжечка (рисунок 59). В связи с распространением процесса больная не была оперирована. Проводилась

симптоматическая терапия по месту жительства. На фоне прогрессивного ухудшения состояния больная умерла 18.02.08.

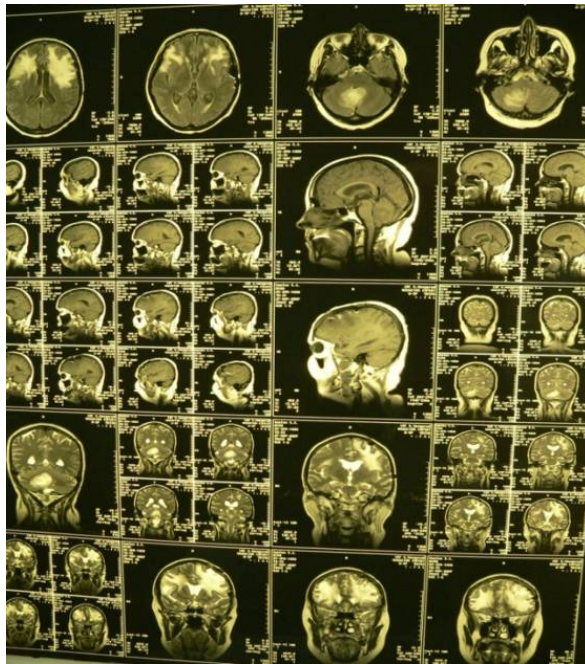


Рисунок 59. МРТ больной Г. от 27.11.07. Метастазирование опухоли в лобные доли и червь мозжечка

Параллельно с ИКС сыворотки крови пациентка была обследована с помощью МРТ. Результаты исследования, полученные при ИКС сыворотки крови и МРТ, совпадали в динамике на протяжении всего периода течения заболевания больной. Результаты изменений значений отношений при ИК исследованиях сыворотки крови больной Г. представлены на диаграмме (рисунок 60).

В данном случае, после проведения больной Г. оперативного лечения, курса интракаротидной ПХТ и лучевой терапии в послеоперационном периоде отмечено значительное снижение показателей значений отношений со снижением показателей до 1,43, что соответствовало выборочному среднему по группе здоровых (рисунок 60) по сравнению с предыдущим результатом, что свидетельствовало об эффективности проводимого противоопухолевого лечения.

Рисунок 60. – Диаграмма изменений значения отношения высоты пиков с максимумом 1150 см^{-1} к 1125 см^{-1} , полученные при исследовании образцов сыворотки крови больной Г. в период с 22.02.07 по 27.11.07. на фоне противоопухолевой терапии и результатов МРТ

Как видно из полученных результатов, предлагаемый способ диагностики опухолей является эффективным для определения продолженного роста злокачественного новообразования головного мозга на раннем этапе, позволяющий определять наличие ранней активации роста злокачественного новообразования головного мозга у пациентов в послеоперационном периоде и, как следствие, своевременно назначать или менять при необходимости курс противоопухолевой терапии.

Исследование индекса ИКС позволяет также оценивать эффективность проводимой противоопухолевой терапии. Если опухоль чувствительна к проводимой терапии, то отмечается снижение значений отношений, или их незначительные колебания (менее 0.5). При отсутствии эффекта от лечения отмечается нарастание значений отношений и в последующем отмечается увеличение размеров образований по данным МРТ или КТ.

ИКС на фоне лучевой терапии неинформативна. Отмечается увеличение значений отношений при отсутствии признаков продолженного роста опухолей. Изменения значений отношений, по-видимому, связаны с повреждающим действием ЛТ на мозговую ткань.

Таким образом, исследование сыворотки крови с помощью ИКС позволяет на раннем этапе, до проявлений изменений по МРТ или КТ диагностировать наличие продолженного роста опухоли, оценивать эффективность противоопухолевой терапии.

Предлагаемый дифференцированный подход к лечению ЗОГМ, который основан на использовании ИКС сыворотки крови больных в послеоперационном периоде в динамике, позволяет на раннем этапе диагностировать продолженный рост опухолей, выявить отсутствие эффекта от проводимого лечения и дает возможность обоснованно и своевременно назначать или менять адъювантную терапию у больных.

По данной методике получен патент на изобретение № 2463598 от 30.09.2011. «Способ определения рецидива злокачественного новообразования головного мозга в послеоперационном периоде».

3.4 Прогностическое значение инфракрасной спектроскопии в диагностике продолженного роста глиобластом в раннем послеоперационном периоде

Каждому из оперирующих нейроонкологов известны случаи необъяснимого продолженного роста ГБ в раннем послеоперационном периоде. По нашим данным в период с 2000 по 2005 г в 8 случаях при первичных опухолях Grade IV отмечался ранний, до 1 месяца, в среднем – 0,81 мес. (24 дня), продолженный рост опухолей. МОВ этих больных составила 4 (1;8) мес. МОВ 75 больных первичными опухолями Grade IV с ВП выше 1 мес. за этот же период составила 7 (1;115) мес.

В настоящее время не существует методов, способных спрогнозировать продолженный рост глиобластом в раннем послеоперационном периоде.

Мы провели исследование в группе 56 больных ЗОГМ, находившихся на лечении в Нижегородском межобластном нейрохирургическом центре и в ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России в период с 2011 по 2015 г. Нами проведено сравнение результатов ИКС сыворотки крови больных в дооперационном и в послеоперационном периодах. Проведено сопоставление полученных результатов с данными морфологического исследования опухолей и перифокальной зоны. Глиобластомы (Grade IV) были диагностированы у 30 (53,57 %) больных. Из них первичные опухоли (de novo) были у 29 больных, у одного больного была вторичная глиобластома после удаления в анамнезе анапластической астроцитомы. Анапластические астроцитомы /Grade III/ были диагностированы у 26 (46,43 %) больных. Все гистологические диагнозы в послеоперационном периоде были подтверждены морфологическим исследованием, в 38 (67,86 %) случаях – иммуногистохимическим методом.

При оценке результатов морфологических исследований мы пользовались международной классификацией ВОЗ. Основой для определения степени злокачественности всех нейроэпителиальных опухолей является выделение четырех основных критериев: ядерного полиморфизма, митозов, эндотелиальной пролиферации, некрозов. Наличие двух признаков (критериев) злокачественности соответствует III степени злокачественности (Grade III). Наличие не менее трех

признаков (критериев) злокачественности соответствует IV степени злокачественности (Grade IV) [Daumas-Duport C., 1992; Louis D.N., 2016].

Методика получения сыворотки крови для ИКС исследования описана в разделе 2.2 II главы. Методика расчета 13 значений отношений ИК спектров описана в разделе 3.1.2 III главы.

Значения отношений пиков поглощения в дооперационном периоде, при глиобластомах и анапластических астроцитомах представлены в таблице 5.

При обследовании с помощью ИК спектроскопии на дооперационном этапе 30 больных с морфологически верифицированной в послеоперационном периоде глиобластомой, мы получили определенные, достоверные значения отношений, характерные для опухоли головного мозга – глиобластома, со степенью злокачественности Grade IV (таблица 5), которые графически представлены на рисунке 10 (раздел 3.2. III глава).

При обследовании с помощью ИК спектроскопии на дооперационном этапе 26 больного с морфологически верифицированной в послеоперационном периоде анапластической астроцитомой, мы также получили определенные, достоверные значения отношений, характерные только для опухоли головного мозга со степенью злокачественности Grade III (анапластическая астроцитома) (таблица 5), которые графически представлены на рисунке 11 (раздел 3.1.2. III глава).

Нами проведено сопоставление результатов ИК спектроскопии сыворотки крови 48 больным, полученными в дооперационном периоде, с результатами обследования, полученных при ИКС сыворотки крови этих же больных на 3-7 день после операции. У всех больных диагноз «глиобластома» (Grade IV) подтвержден морфологически.

Выявлено, что в 38 случаях в послеоперационном периоде 13 значений отношений пиков поглощения и диаграммы этих больных соответствовали наличию у них гистологического диагноза анапластическая астроцитома (Grade III). Объем удаления оценивали при КТ или МРТ исследованиях головного мозга с контрастным усилением в послеоперационном периоде. В 10 случаях, по данным контрольных КТ или МРТ с контрастным усилением, результаты ИКС в

послеоперационном периоде не менялись по сравнению с дооперационными и по-прежнему соответствовали диагнозу «глиобластома».

Проведено также сопоставление полученных результатов с данными магниторезонансной спектроскопии идентичных участков перифокальной зоны в до и послеоперационном периодах. Известно, что ПМРС позволяет определять степень анаплазии опухолей по содержанию и значениям соотношений метаболитов в опухоли и перифокальной зоне (Труфанов Г.Е., 2008; Dowling C., 2001; Kim J., 2006; Karatağ O., 2010; Bieza A., 2012). Вначале в дооперационном, а затем в послеоперационном периоде мы провели мультивоксельную ПМРС опухолей и перифокальной зоны в идентичных участках 7 больным глиобластомами.

До удаления опухоли у всех пациентов на стандартных МР изображениях головного мозга в различных отделах определялись объёмные образования неоднородной структуры без чётких контуров с выраженным перифокальным отёком. По данным ПМРС в выявленных опухолях определялось значительное увеличение высоты пика Cho, значительное снижение высоты пика NAA и высокий двугорбый пик Lac. Отношение Cho/Cr имело очень высокие значения (до 20.1). Отмечалось также существенное увеличение значений индекса Lac/Cr (до 39). Все выше перечисленные данные свидетельствуют о высокой степени злокачественности опухоли (Grade IV). В перифокальной зоне на расстоянии до 1,0 см от видимой границы опухоли отмечалось умеренное увеличение высоты пика Cho, незначительное снижение высоты пика NAA и небольшое увеличение высоты пика Lac. Определялось выраженное снижение показателей соотношения Ins/Cr ($0,15 \pm 0,12$), увеличение значений соотношения Glx/Cr ($0,36 \pm 0,04$). Значения индекса Cho/Cr в различных вокселях составляли ($1,36 \pm 0,7$), что также соответствует степени анаплазии Grade IV. Во всех случаях диагноз был подтвержден результатами гистологического исследования разных участков опухолей.

После удаления опухолей тем больным, у которых до операции исследовали перифокальную зону с помощью ПМРС, также был проведен сравнительный

анализ метаболических изменений в идентичных с дооперационным периодом участках перифокальной зоны.

После удаления глиобластом при ПМРС исследовании у 4 больных идентичных с дооперационным обследованием участков, по сравнению с дооперационными результатами, в перифокальной зоне определялось уменьшение высоты пика Cho, незначительное повышение показателей индекса Ins/Cr ($0,22+0,29$), снижение показателей соотношения Glx/Cr ($0,21+0,08$) и снижение значений индексов Cho/Cr до ($0,69+0,23$), что указывает на снижение степени анаплазии до Grade III-II.

В 3 случаях при исследовании перифокальной зоны в послеоперационном периоде, результаты МРС мало отличались от дооперационных результатов и по-прежнему соответствовали наличию опухоли со степенью анаплазии Grade IV.

Результаты послеоперационных ПМРС совпадали с данным послеоперационных ИКС. Так, у тех больных, у которых в послеоперационном периоде по данным ПМРС в перифокальной зоне определялись метаболические изменения, по данным ИКС также отмечалось наличие опухоли Grade IV. При определении в послеоперационном периоде в перифокальной зоне с помощью ПМРС опухолей Grade III данные ИК также указывали на наличие опухоли Grade IV.

У 28 (93,33%) больных мы исследовали также иммуногистохимически маркер пролиферативной активности Ki-67 в солидной части опухоли и в опухолевых клетках перифокальной зоны больных глиобластомами. Выявлено, что в опухоли индекс пролиферации Ki 67 составлял в среднем 15-25%, что соответствует опухолям со степенью анаплазии Grade. Во всех случаях проводилось исследование разных участков опухолей. Смешанных гистологических вариантов опухолей выявлено не было. При исследовании перифокальной зоны глиобластом, удаленных тотально, в участках, где выявлялись опухолевые клетки, индекс Ki-67 составлял 5-10%, что соответствует опухолям со степенью анаплазии Grade III (Louis D.N., 2016; WHO Classification of Tumors, 2007). Морфологически, при тотальном удалении, в перифокальной зоне определялись критерии злокачественности, на

основании которых, согласно рекомендациям ВОЗ устанавливался диагноз анапластической астроцитомы (Daumas-Duport С., 1992; WHO Classification of Tumors, 2007). При субтотальном удалении глиобластом в перифокальной зоне морфологически выявлялись участки, в которых присутствовали необходимые, согласно рекомендациям ВОЗ, признаки злокачественности, характерные для глиобластом и с уровнем пролиферативной активности выше 15% по Ki-67, что соответствовало опухолям со степенью анаплазии Grade IV.

Данные морфологического обследования перифокальной зоны совпадали с результатами ИКС и ПМРС. Так, в тех случаях, когда в послеоперационном периоде у больных по данным ИКС определялась опухоль со степенью анаплазии Grade III и по данным ПМРС изменения метаболитов соответствовали Grade III в перифокальной зоне иммуногистохимически определялся индекс Ki 67 5-10%. Когда же результаты ИКС в послеоперационном периоде соответствовали опухоли Grade IV и по данным ПМРС определялись изменения метаболитов, характерные для опухолей Grade IV, иммуногистохимическое обследование выявляло участки в перифокальной зоне с уровнем индекса Ki 67 в 15% и выше.

При анализе послеоперационной выживаемости в этой группе больных выявлено, что у 28 больных у которых в дооперационном периоде по данным ИКС определялась опухоль со степенью анаплазии Grade IV (первичные-37), а в послеоперационном – Grade III, медиана ВП составила 129 (72; 286,5) дней, то есть 4,3 (2,4; 9,5) месяца (рисунки 61 А, 62).

В 10 случаях, когда в до и в послеоперационном периодах результаты ИКС не менялись и соответствовали опухоли со степенью анаплазии Grade IV. У этих больных ВП составило 22 (16;30) дня (рисунки 61 Б, 62).

Медиана общей выживаемости (МОВ) у больных, у которых по данным ИКС отмечалось снижение степени анаплазии в послеоперационном периоде составила 398 (193,5; 495,75) дней, то есть 13,5 (6,45; 16,5) месяца (рисунок 63 А), что соответствует средне-статистическим данным. У больных, у которых в

послеоперационном периоде по данным ИКС сохранялась опухоль Grade IV
 МОВ составила 7 (6; 9) мес. (рисунок 63 Б).

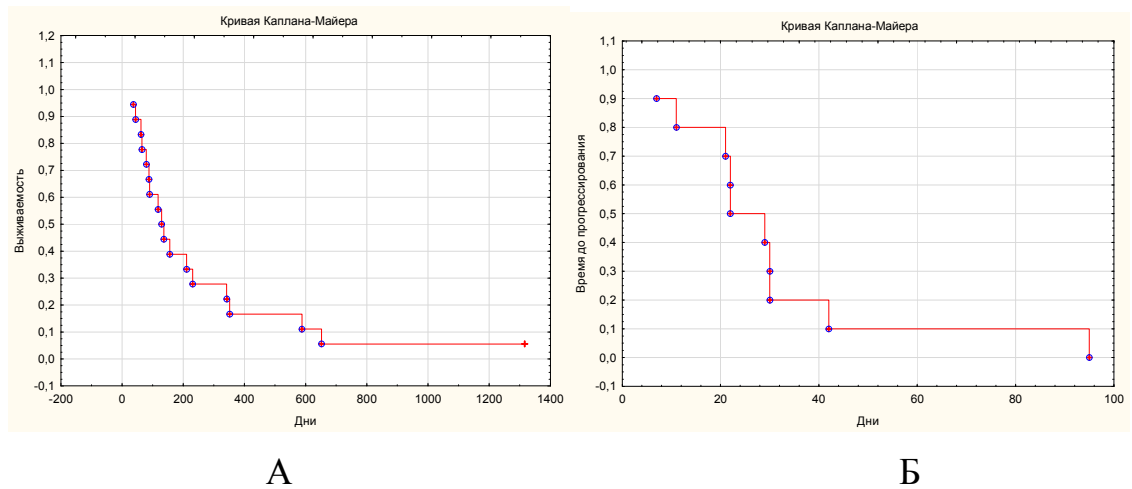


Рисунок 61. – Медиана времени до прогрессирования: А - больных, у которых в дооперационном периоде результаты ИКС соответствовали опухоли со степенью анаплазии Grade IV, а в послеоперационном – Grade III. Б – больных, у которых в дооперационном и в послеоперационном периоде по данным ИКС была диагностирована глиобластома (Grade IV) $p=0.000002$

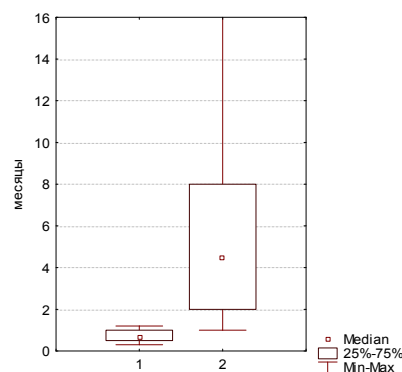


Рисунок 62. – Время до прогрессирования больных опухолями Grade IV: 1 – у которых в послеоперационном периоде по данным ИКС была диагностирована опухоль Grade IV. 2 – у которых в послеоперационном диагностирована опухоль Grade III

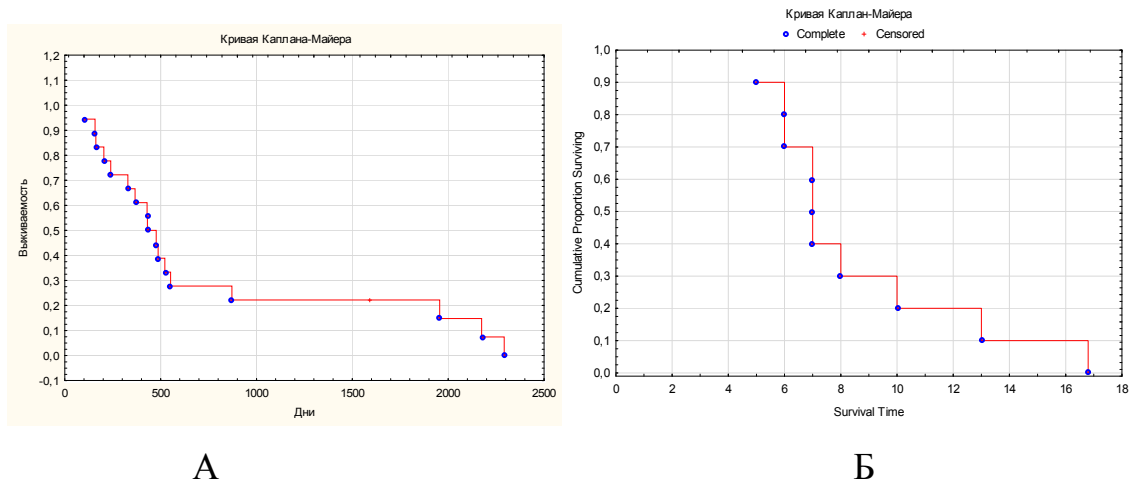


Рисунок 63. – Медиана общей выживаемости больных первичными глиобластомами: А – у которых в послеоперационном периоде по данным ИКС определялась опухоль Grade III; Б – у которых в послеоперационном периоде по данным ИКС определялась опухоль Grade IV $p=0,0023$

Следует отметить, что в 5 случаях при выполнении ИКС сыворотки крови на 1-3 сутки в послеоперационном периоде отмечались изменения, соответствующие опухоли со степенью анаплазии Grade III (анапластическая астроцитома), однако с 3-их суток данные ИКС менялись и соответствовали степени анаплазии Grade IV.

По данным МРТ и КТ, выполненных после операции, с контрастным усилением, в 7 случаях определялись резидуальные остатки опухоли в зоне операции. В 3 наблюдениях при МРТ или КТ в послеоперационном периоде накопления контраста в зоне операции выявлено не было.

Таким образом, исследование сыворотки крови больных первичными глиобластомами с помощью метода ИКС на 3-7 сут. после операции позволяет прогнозировать продолженный рост глиобластом в раннем послеоперационном периоде (до 1 мес.).

Клинический пример 14. Больной С., 53 г., и/б № 109709, находился на лечении в нейрохирургическом отделении ННИТО с 16.09.13 по 01.10.13. Диагноз: внутримозговая опухоль правой височной доли.

Жалобы при поступлении: выраженная головная боль, шаткость походки, периодическая слабость в левых конечностях

Анамнез: заболел осенью 2012 года, когда впервые появились головные боли, позже присоединилась слабость в левых конечностях. 9.11.12 оперирован

по месту жительства – гистологическое заключение - глиобластома. После операции получил курс лучевой терапии, курс химиотерапии. Ухудшение за месяц до поступления в отделение, когда вновь появилась головная боль, слабость в левых конечностях с нарастанием до плегии и частичным регрессом на фоне дексаметазона.

Неврологически: сознание на уровне оглушения 1, критика снижена, центральный парез VII нерва слева, левосторонний гемипарез со снижением силы до 3 баллов, ШК 60 баллов, ECOG 2 балла.

Инструментальные методы обследования: в дооперационном периоде больному 1.08.2013г выполнено МРТ (рисунок 64), КТ 17.09.2013 (рисунок 65) и МР спектроскопия от 16.09.2013 г (рисунок 69А).

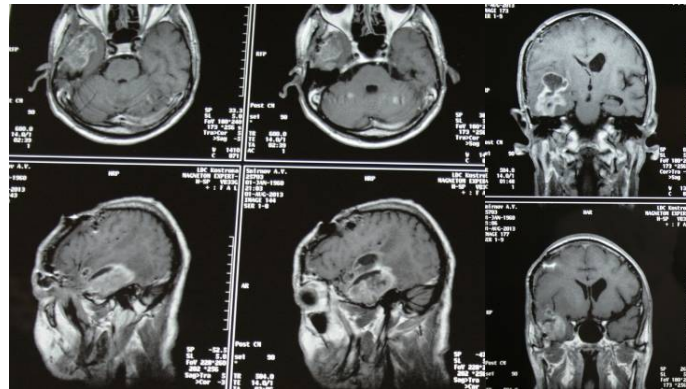


Рисунок 64. – МРТ больного С. от 1.08.13 с контрастным усилением. Продолженный рост кистозной опухоли правой височной доли

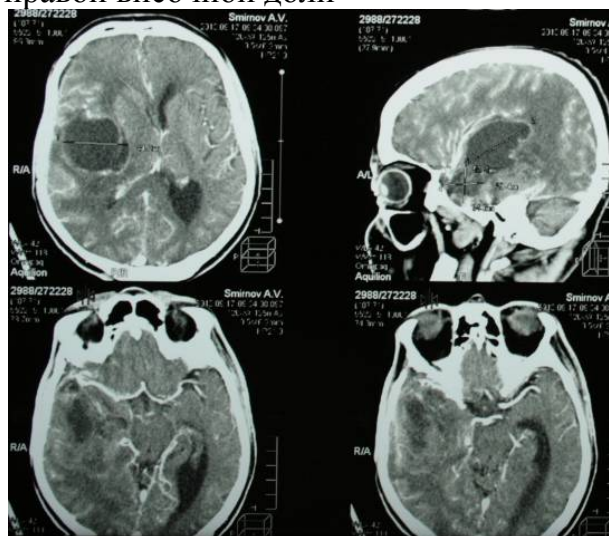


Рисунок 65. – КТ ангиография больного С. от 17.09.13. Смещение срединных структур на 0,8 см

Описанным выше способом 17.09.2013 с помощью ИКС сыворотки крови впервые был исследован образец сыворотки крови больного. Получены результаты, соответствующие наличию опухоли со степенью анаплазии Grade IV - «глиобластома» (таблица 15).

Таблица 15. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больного С.

$\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$	1165/1160	1165/1070	1165/1150	1165/1140	1040/1070	1165/1130	1070/1025	1165/1050	1165/1025	1100/1050	1170/1150	1170/1160	1125/1165
Значения отношений	0,82	1,10	0,61	0,57	1,32	1,29	0,63	0,79	1,13	0,27	0,23	0,23	0,32

Графически дифференциально-диагностический профиль глиобластомы больного С. представлен на рисунок 66.

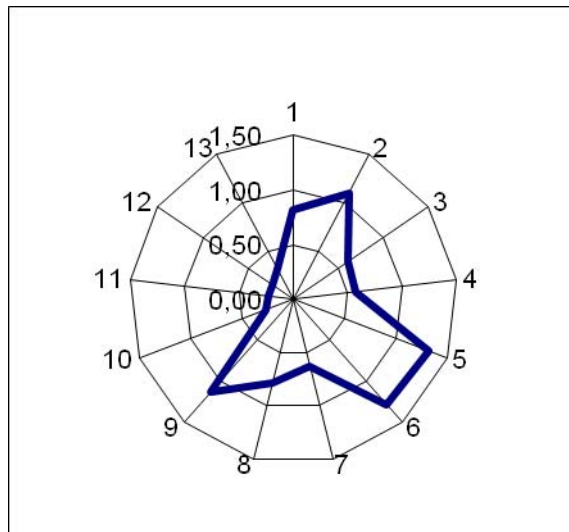


Рисунок 66. –Диагностический профиль больного С. соответствует глиобластоме (степень анаплазии Grade IV)

Учитывая большое смещение срединных структур, тяжесть состояния, 18.09.2013. выполнена стереотаксическая пункция и опорожнение опухолевой кисты. По стабилизации состояния больной оперирован по поводу продолженного

роста опухоли правой височной доли 23.09.13. Гистологическое заключение от 01.10.2013 № 8470-8473 – мультиформная глиобластома.

В послеоперационном периоде больному 24.09.2013 выполнена КТ (рисунок 67).

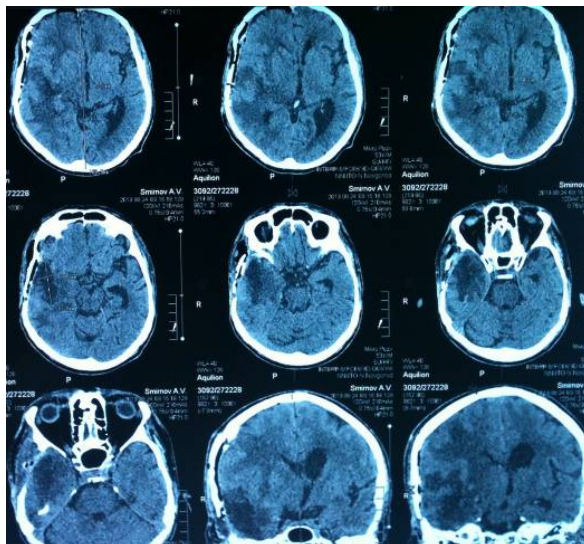


Рисунок 67. – КТ больного С. от 24.09.13 (1е сутки после операции). Состояние после удаления опухоли правой височной доли. Отек височно-теменной области

30.09.13 выполнена ИК спектроскопия сыворотки крови. Полученные результаты значений отношений значительно изменились по сравнению с дооперационными и свидетельствовали о наличии у больного диагноза «анапластическая астроцитомы» (Grade III) (таблица 16).

Таблица 16. -Значения отношений 13 пиков полос поглощения больного С. в послеоперационном периоде

$\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$	1165/1160	1165/1070	1165/1150	1165/1140	1040/1070	1165/1130	1070/1025	1165/1050	1165/1025	1100/1050	1170/1150	1170/1160	1125/1165
Значения отношений	0,60	0,45	0,45	0,42	1,18	0,68	0,76	0,41	0,30	0,31	0,31	0,45	1,18

Графически дифференциально-диагностический профиль анапластической астроцитомы больного С. представлен на рисунке 68.

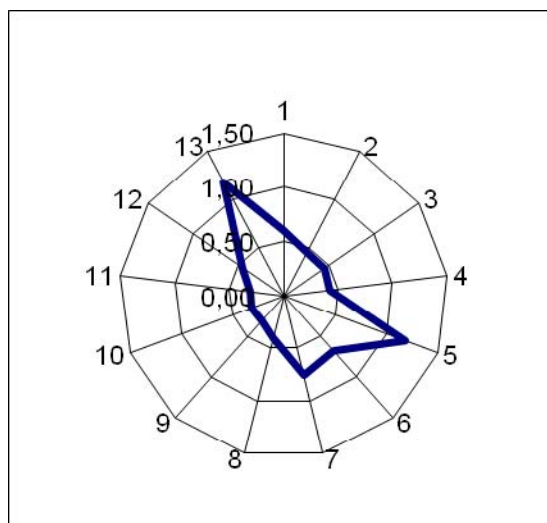


Рисунок 68. – Графическое изображение глиобластомы у больного С. в послеоперационном периоде

Больному 29.09.2013 выполнена МР спектроскопия и МРТ с контрастным усилением (рисунок 69Б; 70).

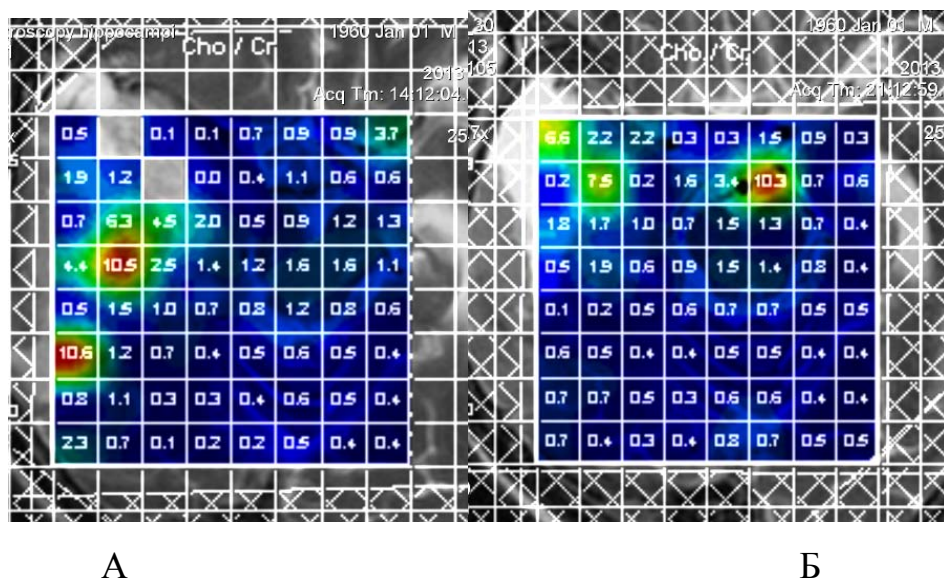


Рисунок 69. – 2 D мультивоксельная протонная магнитно-резонансная спектроскопия больного С. Цветные параметрические карты. Соотношение Cho/Cr. А - МРС до операции от 17.09.13. Б - МРС после операции от 29.09.13

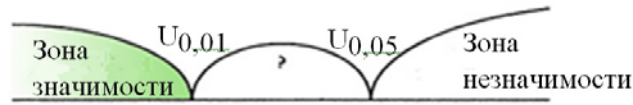
В послеоперационном периоде в 20 (95,2%) из 21 сравниваемых вокселей отмечается снижение показателей индекса Cho/Cr ($p < 0,01$, критерий Манна-Уитни). Характер изменений показателей индексов и абсолютных значений метаболитов в перифокальной зоне соответствует опухоли со степенью Grade III.

Результат: $U_{\text{эмп}} = 12$

Критическое значение

$U_{\text{кр}}$	
$p \leq 0,01$	$p \leq 0,05$
14	21

Ось значимости:



Полученное значение $U_{\text{эмп}}$ (12) находится в зоне значимости

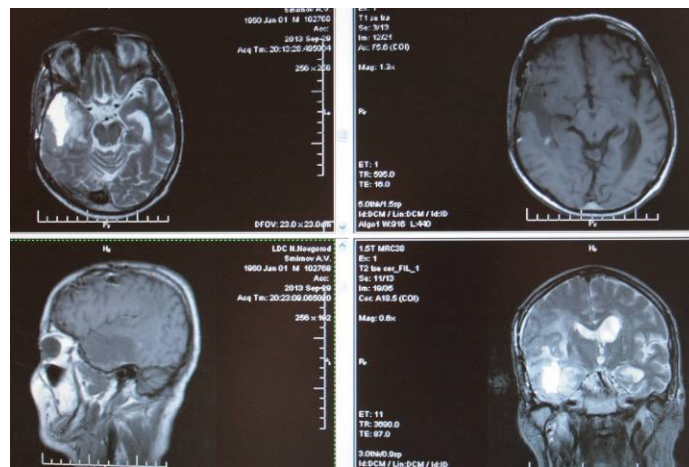


Рисунок 70. – МРТ больного С. от 29.09.13 с контрастным усилением. Состояние после удаления опухоли височной доли справа. Накопление контраста не определяется

На контрольной КТ от 30.09.13 с контрастным усилением накопление контраста в зоне операции не определяется (рисунок 71).



Рисунок 71. – КТ больного С. от 30.09.13 с контрастным усилением. Состояние после удаления опухоли правой височной доли. Накопление контраста в зоне операции не определяется

При морфологическом исследовании во всех случаях исследовались разные участки опухолей, и смешанных форм выявлено не было. В данном случае установлен диагноз глиобластомы, который был подтвержден иммуногистохимически. В опухоли индекс пролиферации Ki 67 составлял 25%, что соответствует степени анаплазии Grade IV (рисунок 72).

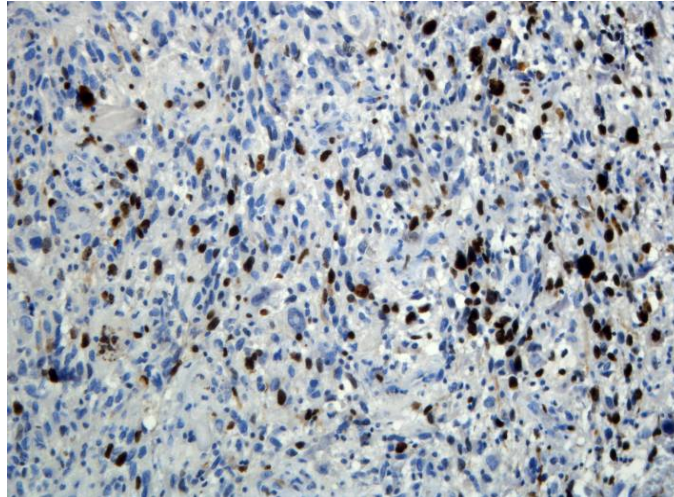


Рисунок 72. – Экспрессия Ki-67 в ядрах опухолевых клеток солидной части опухоли больного С. глиобластомы, равна 25 % X200

При исследовании перифокальной зоны опухоли в участках, где выявлялись опухолевые клетки, Ki-67 составлял в среднем 10 %, что соответствует опухолям со степенью анаплазии Grade III – II (рисунок 73) (WHO Classification of Tumors, 2007).

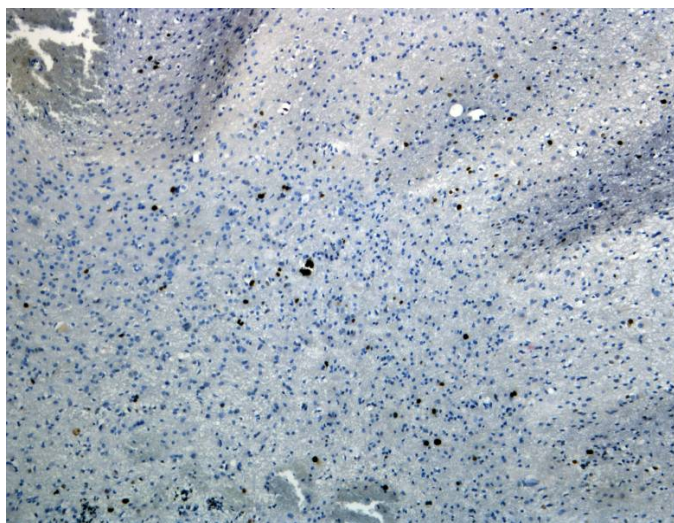


Рисунок 73. – Экспрессия Ki-67 в ядрах опухолевых клеток перифокальной зоны опухоли больного С. глиобластомы равна 10 % X 100

Продолженный рост опухоли отмечен через 4,5 месяца после операции. Больной за этот период получил 3 курса химиотерапии темодалом.

Клинический пример 15. Больная Л., 57 лет, и/б № 269943, находилась на лечении в отделении нейрохирургии ННИИТО с 17.06.13. по 02.07.13. с диагнозом: продолженный рост глиобластомы теменно-затылочной области слева с мультифокальным ростом.

Жалобы при поступлении: головная боль, слабость в правых конечностях, преимущественно в руке, учащение эпилептических приступов, общая слабость, снижение памяти.

Анамнез: впервые эпилептический приступ возник в феврале 2012, выполнена МРТ головного мозга, на которой выявлено объемное образование левой теменной доли. Оперирована в марте 2012 в ГKB 39. После операции прошла 8 курсов химиотерапии темодалом, курс лучевой терапии 60 Гр, по поводу продолженного роста опухоли прошла курс радиохимиотерапии 48 Гр в декабре 2012. Постоянно принимала конвулекс. Ухудшение с марта 2013, когда снова появились генерализованные эпилептические приступы.

При поступлении в неврологическом статусе: умеренно выраженная сенсорная афазия, акалькулия, алексия, анизорефлексия D>S, центральный парез 7 нерва справа, гемипарез справа, со снижением силы до 3 баллов, неустойчива в позе Ромберга. При осмотре нейроофтальмолога застой на глазном дне 1 ст. Состояние по шкале Карновского 60 баллов, ECOG 2 балла.

По данным МРТ с контрастным усилением от 21.05.13. (рисунок 74) и КТ от 18.06.13 (рисунок 75) – продолженный рост опухоли в теменную и затылочную доли головного мозга справа, мультифокальный рост.

Описанным выше способом больной в дооперационном периоде 18.06.13 выполнена ИК спектроскопия сыворотки крови. Полученные результаты 13 значений отношений спектров свидетельствовали о наличии у больной диагноза «глиобластома» (таблица 17).

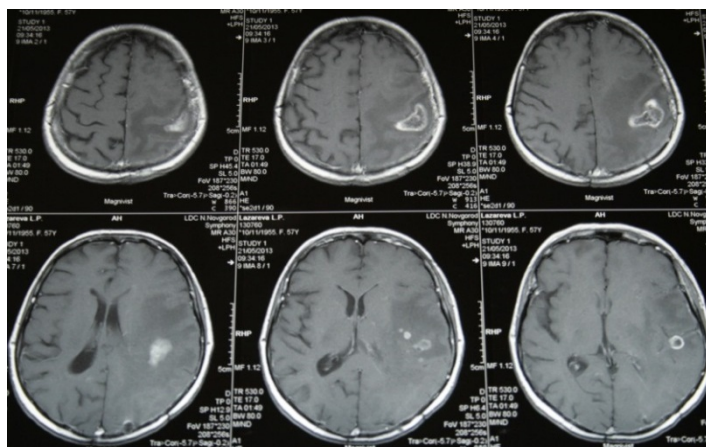


Рисунок 74. – МРТ с контрастным усилением от 21.05.13. – продолженный рост опухоли в теменную и затылочную доли головного мозга справа. С учетом данных анамнеза – глиобластома

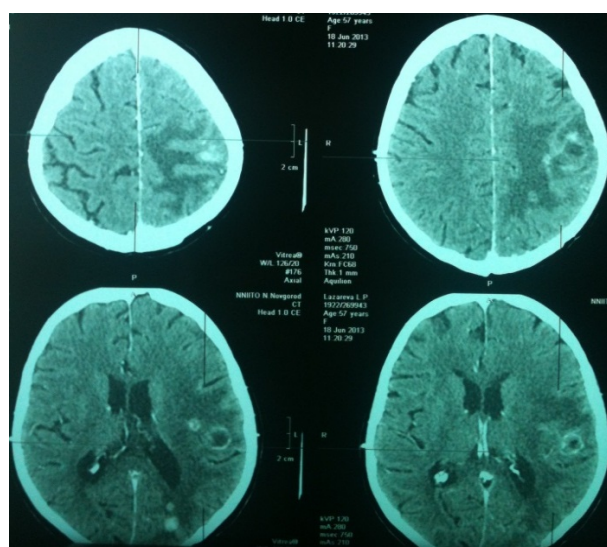


Рисунок 75.– КТ больной Л. с контрастным усилением от 18.06.13. Опухоли задне-лобно–теменной и затылочной областей справа. С учетом данных анамнеза – продолженный рост глиобластомы. Мультифокальный рост

Таблица 17. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больной Л. в дооперационном периоде

$\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$	1165/1160	1165/1070	1165/1150	1165/1140	1040/1070	1165/1130	1070/1025	1165/1050	1165/1025	1100/1050	1170/1150	1170/1160	1125/1165
Значения отношений	0,79	1,02	0,61	0,59	1,47	1,14	0,69	0,83	1,13	0,27	0,3	0,24	0,56

Графически дифференциально-диагностический профиль глиобластомы больной Л. представлен на рисунке 76.

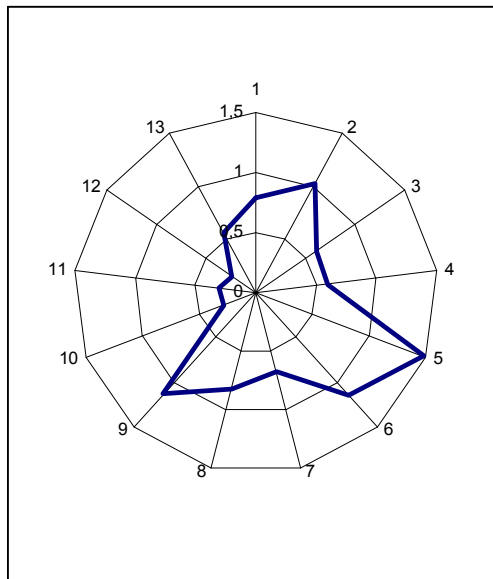


Рисунок 76. – Графическое изображение глиобластомы у больной Л в дооперационном периоде

Полученные дооперационные результаты ИК спектроскопии совпадали с данными анамнеза – гистологически подтвержденный диагноз глиобластомы по данным обследования от предыдущей операции и с результатами дооперационных МРТ, МР спектроскопии и КТ. С целью удаления доступных образований и забора опухолевого материала для проведения в послеоперационном периоде специфической иммунотерапии на основе дендритных клеток, больная оперирована 19.06.13 – субтотальное удаление опухоли.

Опухолевый узел в затылочной области удален тотально, в теменно-затылочной – субтотально. В послеоперационном периоде на 1е сутки выполнена КТ без контрастного усиления (рисунок 77).

В послеоперационном периоде повторно 26.06.13 выполнена ИК спектроскопия сыворотки крови. Полученные результаты значений отношений значительно не изменились по сравнению с дооперационными и по прежнему свидетельствовали о наличии у больной диагноза «глиобластома» (таблица 18).

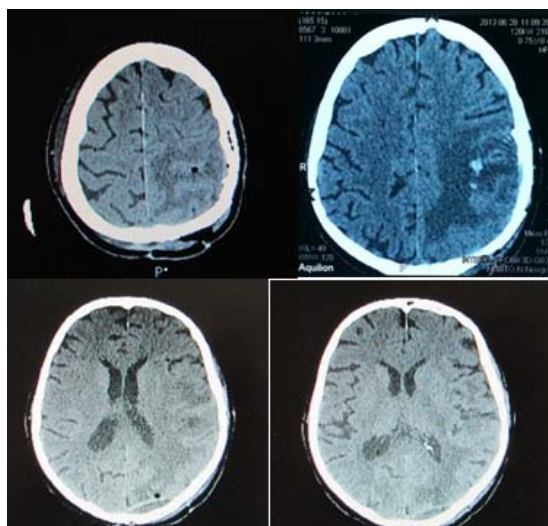


Рисунок 77. – КТ больной Л. на 1-е сутки после операции с контрастным усилением от 20.06.13. Состояние после удаления мультифокального роста глиобластомы в затылочной и теменной областях слева. Определяется небольшая гематома в ложе опухоли в теменной области

Таблица 18. – Значения отношений 13 пиков полос поглощения больной Л. в послеоперационном периоде

$\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$	1165/116	1165/107	1165/115	1165/114	1040/107	1165/113	1070/102	1165/105	1165/102	1100/105	1170/115	1170/116	1125/116
	0	0	0	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5
Значения отношений	0,8	1,1	0,61	0,5	1,4	1,2	0,61	0,9	1,12	0,27	0,12	0,2	0,74

Графически дифференциально-диагностический профиль глиобластомы больной Л. представлен на рисунке 78.

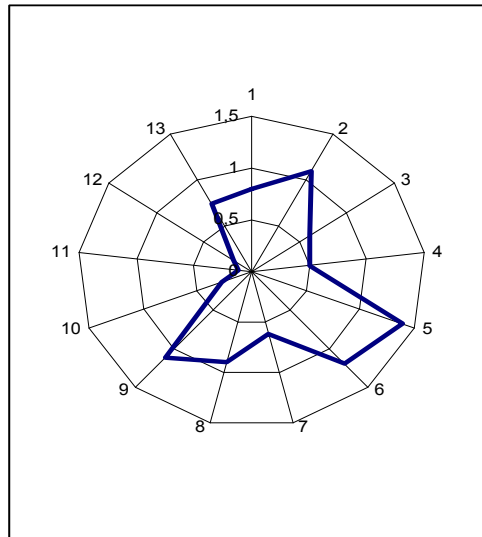


Рисунок 78. – Графическое изображение глиобластомы у больной Л в послеоперационном периоде

На контрольной КТ с контрастным усилением от 28.06.13 – состояние после субтотального удаления опухолей в теменной области конвексимально и в затылочной области (рисунок 79).

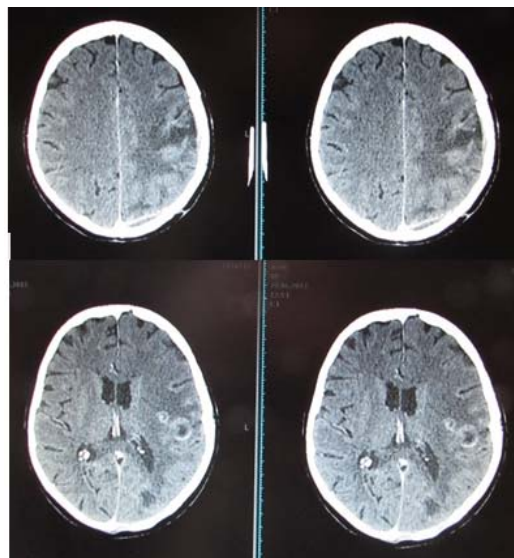


Рисунок 79. – КТ через 9 дней после операции. Состояние после тотального удаления опухоли в затылочной области. Продолженный рост опухоли в теменной области медиально

Гистологическое заключение № 5046-5050 №1- солидная часть опухоли от 03.07.13 - мультиформная глиобластома. Иммуногистохимия от 13.07.13- пролиферативная активность опухолевых клеток в сохранном участке опухоли, измеренная по экспрессии Ki-67 составляла 25 %. Степень анаплазии – Grade IV (рисунок 80).

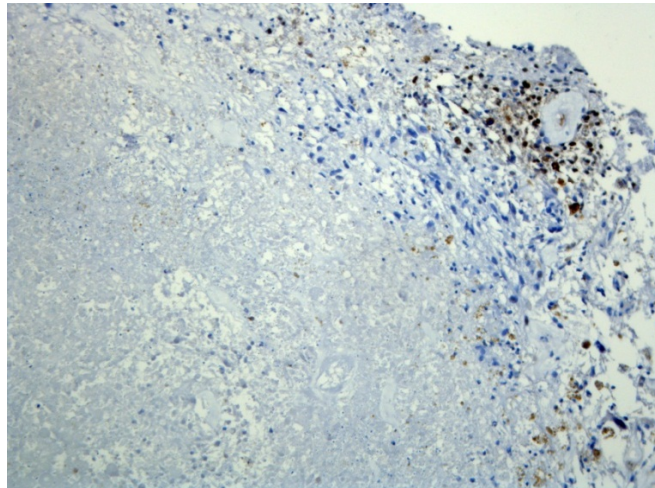


Рисунок 80.— Большая часть опухоли некротически изменена. В одном из полей зрения выявляется сохранившийся участок опухоли, представленной полем компактно лежащих мелких и средних крайне атипичных опухолевых астроцитов с округлыми, угловатыми и полигональными гиперхромными ядрами и ободком эозинофильной цитосыворотки. Выявляются отдельные клетки со смещенными ядрами и обильной эозинофильной цитоплазмой. В ядрах отдельных опухолевых клеток выявляется гиперэкспрессия p53. Проллиферативная активность опухолевых клеток в сохранном участке опухоли- 25 % по экспрессии Ki-67. Ув. X 200

Полученные послеоперационные результаты ИК спектроскопии совпадали с данными гистологического обследования перифокальной зоны. Так, при гистологическом исследовании перифокальной зоны теменной области выявлена опухоль как с участками, соответствующими глиобластоме, так и с опухолью более высокой дифференцировки – астроцитоме (рисунок 81).

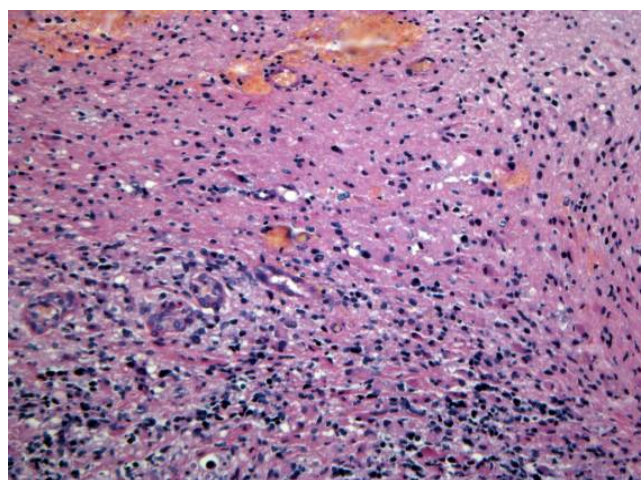


Рисунок 81.— Перифокальная зона больной Л. На снимке выявляется гетерогенность строения опухоли периферической зоны опухоли теменной области. Отмечается достаточно четкая граница между участком опухоли, соответствующей по строению глиобластоме (Gr. IV) внизу снимка, и опухоли, представленной более рыхлым расположением опухолевых клеток с менее выраженной атипией вверху снимка.

Гистологическая картина этого участка соответствует астроцитоме (Gr. II-III). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. X 200

Заключение № 5050-5052 – перифокальная зона затылочной области опухоли, от 03.07.13 – мультиформная глиобластома. Иммуногистохимия от 13.07.13 - пролиферативная активность опухоли перифокальной зоны затылочной области, измеренная по Ki-67, составляла 15 %, что соответствует степени злокачественности Grade IV (рисунок 82).

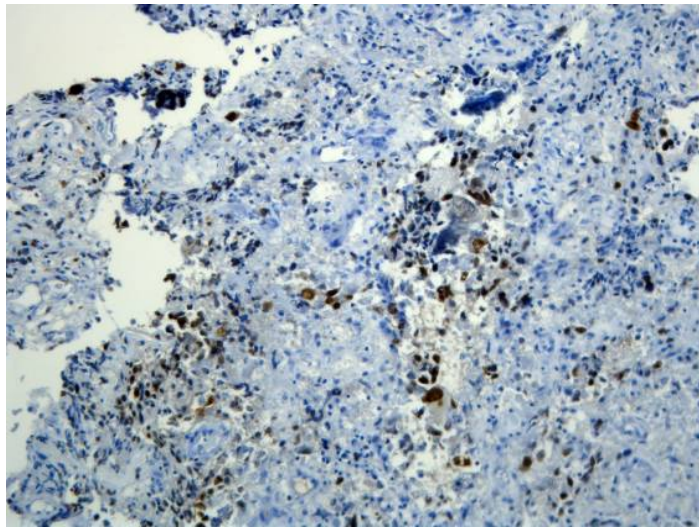


Рисунок 82. – В ядрах единичных клеток отмечается экспрессия p53. Пролиферативная активность опухоли в перифокальной зоне затылочной области больной Л., измеренная по Ki-67, составляет 15 %. Ув. X 200

При выполнении ПМРС опухоли и перифокальной зоны до операции от 29.03.13 в зоне образования отмечалось выраженное повышение высоты пика Cho, резкое снижение высоты пика NAA, резкое увеличение высоты пика Lac, значительное увеличение значений индексов Cho/Cr (20.3) и Lac/Cr (39.7), что позволяет говорить о высокой степени анаплазии выявленного образования Grade IV - глиобластома. В перифокальной зоне на расстоянии 3.0 см от видимой границы выявленного образования отмечалось увеличение показателей индексов Cho/Cr и Lac/Cr до значений 1.3 и 2.1 соответственно, что также характерно для опухолей со степенью анаплазии Grade IV (рисунок 83).

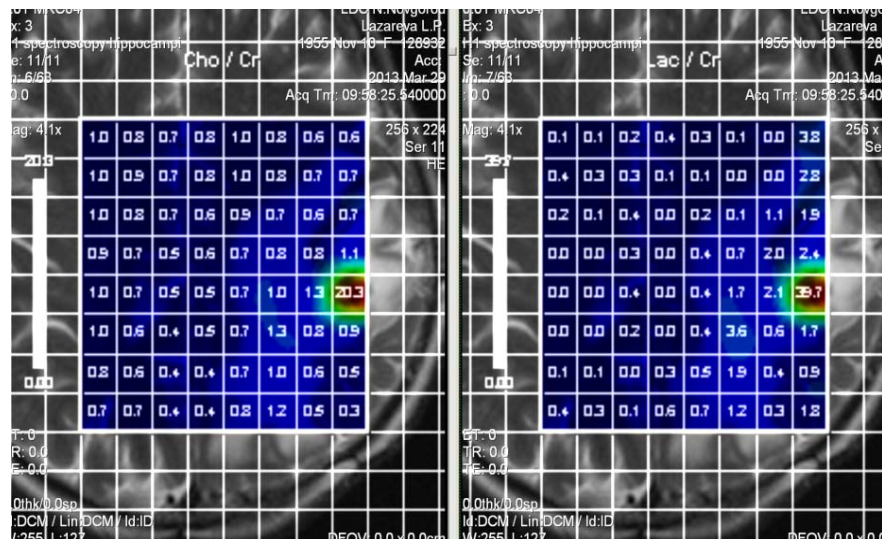


Рисунок 83. – 2 D мультивоксельная протонная магнитно-резонансная спектроскопия опухоли и перифокальной зоны больной Л. до операции от 29.03.13. Цветные параметрические карты. Соотношение Cho/Cr и Lac/Cr.

При обследовании с помощью ПМРС перифокальной зоны опухоли после операции - от 1.07.13 сохранялось высокое значение индексов Cho/Cr и Lac/Cr до 2.21 и 16.1, соответственно, что указывает на наличие в перифокальной зоне опухолевой инфильтрации с высокой степенью аномалии Grade IV – глиобластома (рисунок 84).

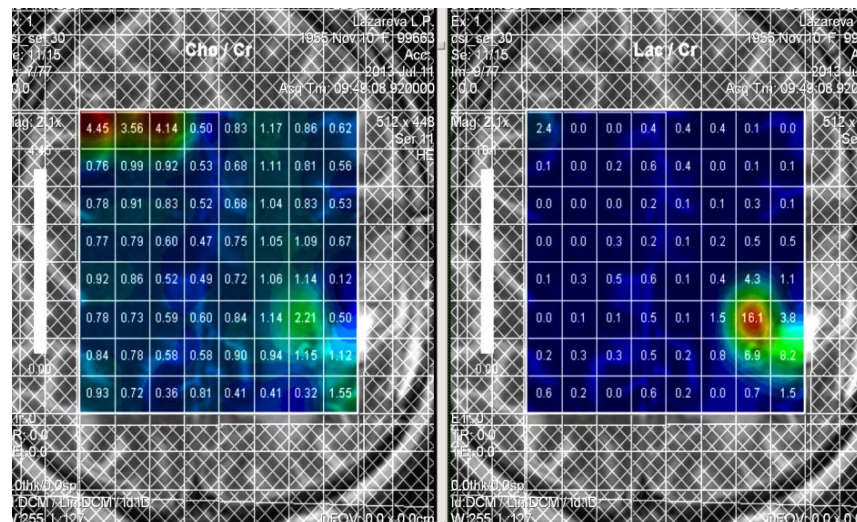


Рисунок 84. – 2 D мультивоксельная протонная магнитно-резонансная спектроскопия опухоли и перифокальной зоны больной Л. после операции от 1.07.13. Цветные параметрические карты. Соотношение Cho/Cr и Lac/Cr

Результаты послеоперационной ИКС от 26.06.13, когда была диагностирована у больного опухоль Grade IV (глиобластома), соответствовали

результатам послеоперационной КТ от 20.06.13, по данным которой были выявлены резидуальные остатки опухоли в теменной области (рисунок 77). Результаты послеоперационной ИКС соответствовали также результатам послеоперационной МР спектроскопии от 1.07.13 (рисунок 84).

Клинически через 3,5 недели после операции отмечилось ухудшение состояния в виде нарастания гемипареза и гемиянестезии справа, что было расценено как продолженный рост опухоли, который был подтвержден на фоне прогрессивного ухудшения состояния при МРТ от 9.08.21 (рисунок 85).

Таким образом, при наличии значений отношений, соответствующих опухоли Grade IV (глиобластома) в послеоперационном периоде по данным ИКС, участков перифокальной зоны теменной области, где по данным ИГХ отмечался высокий пролиферативный индекс Ki-67, высоких значений индексов Cho/Cr и Lac/Cr ожидаемым был ранний продолженный рост опухоли, что и было подтверждено через 1,5 мес., когда по данным МРТ был диагностирован продолженный рост глиобластомы.

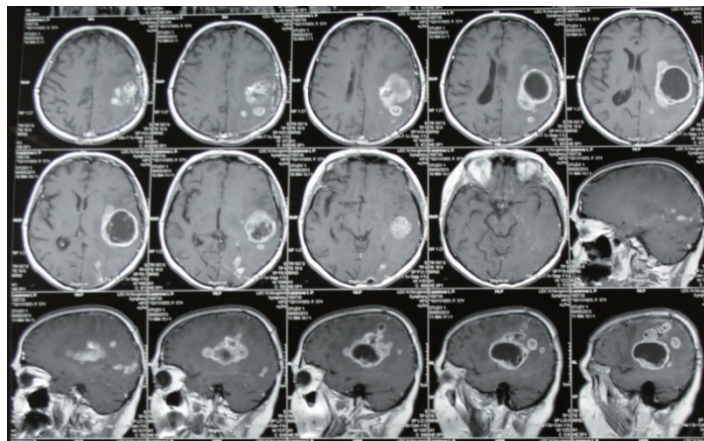


Рисунок 85. – МРТ больной Л. с контрастным усилением от 03.08.13- продолженный рост глиобластомы теменной области слева

Данные примеры демонстрируют, что соответствие результатов ИКС сыворотки крови больных в дооперационном периоде и в послеоперационном периоде опухоли со степенью анаплазии Grade IV (глиобластомы) свидетельствует о высокой активности опухолевого процесса и является прогностическим фактором раннего продолженного роста глиобластом.

Изменение результатов ИКС сыворотки крови больных от опухоли со степенью анаплазии Grade IV (глиобластомы) в дооперационном периоде до Grade III (анапластическая астроцитома) в послеоперационном периоде свидетельствует об отсутствии данных за высокую активность опухоли и является прогностическим фактором обычного течения заболевания.

Полученные результаты подтверждены данными ПМРС и ИГХ перифокальной зоны. Так, при отсутствии изменений по ИКС в дооперационном и послеоперационном периодах, метаболические изменения по данным ПМРС в прилегающих к опухоли участках перифокальной зоны, как в дооперационном, так и в послеоперационном периодах также соответствуют степени анаплазии Grade IV. В перифокальной зоне по данным ИГХ выявляются участки с высоким пролиферативным индексом, характерным для опухолей Grade IV. При этом по нашим данным происходит быстрое увеличение клеточной популяции глиобластомы в раннем послеоперационном периоде.

Изменения ИКС от характерных для глиобластомы в дооперационном периоде до АА в послеоперационном периоде соответствуют данным ПМРС, которые показывают, что метаболические изменения в прилегающих к опухоли участках перифокальной зоны также меняются от характерных для глиобластомы в дооперационном периоде до АА в послеоперационном периоде. При исследовании перифокальной зоны, по данным ИГХ в перифокальной зоне определяются изменения, характерные для опухолей со степенью анаплазии Grade III. В этих случаях динамика увеличения клеточной популяции медленная.

Таким образом, изменения значений ИКС, определяемых в динамике в до и в послеоперационном периодах, позволяют прогнозировать в послеоперационном периоде ранний продолженный рост глиобластом.

Полученные данные изменения степени анаплазии от Grade IV до Grade III в послеоперационном периоде свидетельствуют о дифференцировке глиобластом в раннем послеоперационном периоде.

Полученные нами результаты дифференцировки ГБ (Grade IV) в АА (Grade III) теоретически можно объяснить с позиции тканевой теории онкогенеза, согласно которой саморегулирующаяся система (гомеостаз) контролирует постоянство качественного и количественного состава клеток, которые обладают

потенцией к независимому размножению. Согласно этой теории нарушение тканевого механизма контроля приводит к неконтролируемому делению клоногенных ОСК, обладающих активизированными онкогенами (Черезов А. Е., 1997).

В процессах направленной онкодифференцировки большая роль отводится клеточно-молекулярному и метаболическому микроокружению опухолевых клеток, включающему взаимодействие между клетками опухоли, неопухолевыми клетками, факторами стромального компонента, нейрональными и опухолевыми стволовыми клетками, а также напряжению кислорода, кислотности, содержанию лактата, глюкозы, дефициту энергии, потоку интерстициальной жидкости, интерстициальной гипертензии, продуцирующими клетками микроокружения разных факторов, влияющих в результате на пролиферацию, тип деления и в конечном итоге дифференцировку клеток (Бережная Н.М. 2009; Васильев Ю.М., 1986; Черезов А.Е., 1997; Осинский С.П., 2009; Лисяный Н.И., 2011; Pistollato F., 2010). Влияние микроокружения на морфологическую дифференцировку клеток подтверждено и другими исследованиями (Борисов К.Е., 2013; Dong Y., 2010; Talayev V. Yu., et al., 2010).

Применяемые в настоящее время противоопухолевые методики (химиолучевая терапия, хирургическое удаление опухоли) в той или иной мере воздействуют как на опухоль, так и на ее микроокружение. При этом снижается влияние опухолевых клеток основного опухолевого узла на перифокальную зону. В зависимости от объёма удаления опухоли существенно меняется кинетика (скорость роста) опухолевого процесса (Эмануэль Н.М., 1977). При тотальном удалении опухолевого узла одномоментно удаляются основная масса активно пролиферирующих опухолевых клеток, большая часть химио- и радио-резистентных опухолевых клеток, ОСК, находящиеся в строме опухоли, очаги некрозов, большая часть новообразованных опухолевых сосудов, продуцируемые опухолевыми клетками факторы роста, цитокины, медиаторы воспаления, антитела, протеазы и другие типы ферментов, различные метаболиты и т.д. В литературе встречаются данные о важной роли микроокружения опухоли в злокачественной трансформации, дифференцировке и росте опухолевых клеток.

В послеоперационном периоде существенно меняется кровоток, сосудистая проницаемость, кислотность, осмотическое и онкотическое давление в

перифокальной зоне опухоли, парциальное напряжение кислорода в прилежащих тканях и т.д. Все вышеперечисленное существенно меняет гомеостаз окружающих тканей. В силу инфильтративного роста глиобластом оставшиеся в послеоперационном периоде в перифокальной зоне не удаленные опухолевые клетки в послеоперационном периоде находятся в изменившихся условиях микроокружения, что оказывает существенное влияние на кинетику опухолевого процесса в послеоперационном периоде.

Известно, что МРТ и КТ, даже с контрастным усилением, не позволяют диагностировать мелкие (менее 1-2 мм в диаметре) остатки опухоли в раннем послеоперационном периоде (Li V.W., 1994; Folkman J., 1971). Вместе с тем, оставшиеся не удаленными опухолевые клетки со степенью анаплазии Grade IV способствуют раннему продолженному росту глиобластомы. Известно, что более 90% глиом рецидивируют из перифокальной зоны, где условия микроокружения способствуют выживанию, а затем и прогрессии опухолевых клеток (Choucair A.K., 1986). ИКС сыворотки крови позволяет спрогнозировать продолженный рост глиобластомы в раннем послеоперационном периоде. Это позволяют оценить, насколько эффективным и насколько тотальным было оперативное вмешательство, и в результате по какому пути развития пойдет опухолевая болезнь: как глиобластома – с ранним продолженным ростом, или как астроцитома с более длительным безрецидивным периодом.

Обнаруженные типичные изменения являются стереотипной динамической реакцией мозга, оставшихся опухолевых клеток в перифокальной зоне, микроокружения и организма в целом на удаление основной массы опухоли, регистрируемые с помощью ИК спектроскопии сыворотки крови, ПМРС и иммуногистохимического обследования.

Описываемое в литературе теоретическое предположение о роли микроокружения в онкогенезе нашло очередное подтверждение в наших клинических исследованиях.

По результатам данного исследования подтверждено открытие «Явление дифференцировки злокачественных опухолей головного мозга» за № 470 от 5 мая 2014 г.

ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХИМИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

4.1 Повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера

Одним из факторов, снижающих эффективность химиотерапии больных ЗОГМ, является низкая проницаемость через ГЭБ большинства химиопрепаратов (Аронов М.Ф., 2008; Azad T.D. 2015; Jackson S. et al., 2015). Самиглиальные опухоли вызывают нарушение проницаемости церебральных сосудов в пределах новообразований (Мацко Д.Е., 1998; Шамаев М.И., 198). Многочисленными клиническими исследованиями было показано, что кратковременное повышение проницаемости ГЭБ улучшает результаты химиотерапии опухолей головного мозга (Аронов М.Ф., 2008; Кобяков Г.Л., 2011; Yao H., 201). Большинство методик, способных вызвать временное раскрытие ГЭБ, имеют ряд недостатков, к которым относятся риск серьезных осложнений и короткое (от 20 минут до нескольких часов) терапевтическое окно – время, на протяжении которого облегчается доставка препаратов к опухоли через нарушенный ГЭБ (Зозуля Ю.А., 200). Поэтому для повышения эффективности химиотерапии остается актуальным разработка новых безопасных, эффективных методов, позволяющих длительно, но обратимо изменять проницаемость ГЭБ (Healy A.T., 201).

В некоторых исследованиях было показано, что в механизме разрушения ГЭБ определенную роль играют СРС (Maurya S.K., 2014; Zhao Z., 2014; Okada R., 2015). Для временного повышения проницаемости ГЭБ мы использовали метод интракаротидного введения озонированного физиологического раствора, как источника СРС.

Было проведено 3 серии экспериментов (по 6 животных в серии). В I контрольной серии вводился 0,9% физиологический раствор, во II серии – ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л, в III серии – ОФР с концентрацией озона 1,7 мг/л.

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры неокортекса при интракаротидном введении физиологического раствора не выявило изменений проницаемости ГЭБ. Диаметр капилляров составлял $3,24 \pm 0,13$ мкм ($n=30$).

У животных II серии через 15 минут после введения ОФР в неокортексе капилляры имели широкий просвет (диаметр $4,65 \pm 0,38$ мкм, $p < 0,001$). В просветах сосудов просматривался тонкодисперсный осмиофильный материал (плазма) и эритроциты, отмечалось очаговое набухание эндотелия капилляров и базальной мембраны. В участках набухания обнаружена редукция межэндотелиальных плотных контактов. Выявлено набухание отдельных отростков астроцитов в перикапиллярной области (рисунок 86).

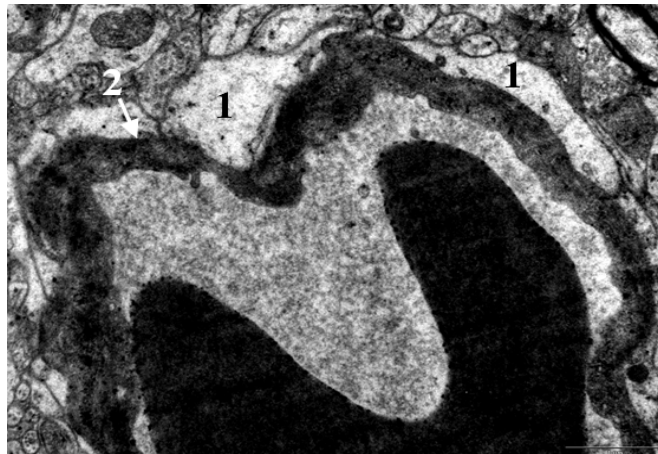


Рисунок 86. – Ультраструктура ГЭБ через 15 минут после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л. Масштабный отрезок 1 мкм. 1– отросток астроцита, 2 – базальная мембрана

В значительной части светлых нейронов ядро содержало эухроматин, хорошо выраженное ядрышко. В некоторых нейронах определялись незначительные инвагинации ядерной мембраны, в цитосыворотке – расширение цистерн Комплекса Гльджи (КГ).

Через сутки у животных этой серии большинство капилляров имели суженный просвет (таблица 19) и содержали плазму.

Таблица 19. – Диаметр капилляров сенсомоторной зоны неокортекса белых крыс при введении ОФР ($M \pm SEM$)

Период наблюдения	Концентрация озона в растворе, мг/л	
	0,7	1,7
1 сутки	$2,045 \pm 0,193^*$ $n=10$ $p < 0,0001$	$2,85 \pm 0,156^*$ $n=11$ $p < 0,01$
14 суток	$3,079 \pm 0,180$ $n=7$ $p > 0,05$	$2,67 \pm 0,238^*$ $n=9$ $p < 0,01$
30 суток	$3,993 \pm 0,009$ $n=10$ $p > 0,05$	$2,935 \pm 0,243$ $n=10$ $p > 0,05$

* - статистическая значимость различий с контрольной группой

Отмечено изменение состояния ГЭБ: эндотелий значительного числа капилляров был набухший, имел неровные контуры, тёмную цитоплазму, нечёткие клеточные мембраны. В цитосыворотке наблюдались небольшие вакуоли и пиноцитозные пузырьки в сублеммальной области. Межэндотелиальные щели расширены в некоторых случаях до 20 нм. Базальная мембрана была набухшая, извитая, местами разволокнена, на значительном протяжении расплавлена. Этим зонам, как правило, подлежали набухшие и увеличенные в размерах отростки астроцитов, прилегающие к капилляру (рисунок 87).

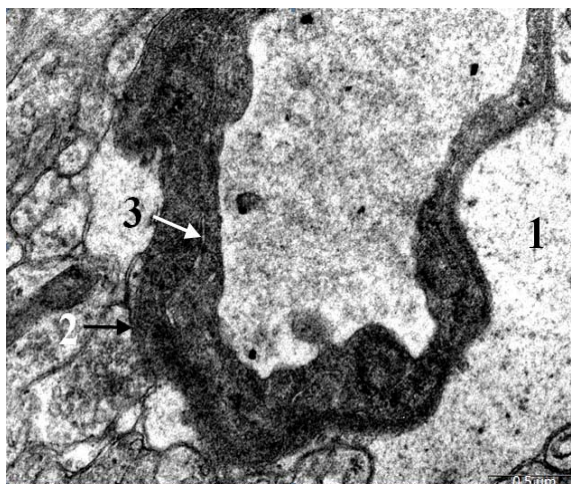


Рисунок 87. – Ультраструктура ГЭБ через сутки после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л. Масштабный отрезок 0,5 мкм. 1 – отросток астроцита, 2 – базальная мембрана; 3 – межэндотелиальная щель

Наряду с этим выявлены астроциты обычного вида без признаков набухания.

Светлые нейроны имели чёткую ультраструктуру: ядро содержало эухроматин, в половине случаев нейроны были с хорошо выраженным ядрышком. В некоторых из них ядрышко находилось в субмембранной области, что сопровождалось активацией КГ. В отдельных нейронах наблюдалась инвагинация ядра, в цитосыворотке этих нейронов имело место удлинение и расширение цистерн ГЭПР и КГ. МХ были с плотным матриксом. Большая часть нейронов содержала много рибосом и полисом, отдельные первичные и вторичные лизосомы. Наряду со светлыми нейронами встречались гиперхромные нейроны.

На 14 день после введения ОФР у животных этой серии электронномикроскопический анализ (ЭМА) выявил восстановление микроциркуляции (МЦ) (таблица 15), в просветах капилляров находился тонкодисперсный осмиофильный материал и эритроциты. Отмечалось восстановление структуры ГЭБ: эндотелий капилляров в большинстве своём был обычного вида, имел плотные межклеточные соединения. Базальная мембрана чётко выражена в большей части наблюдений, местами набухшая (рисунок 88).

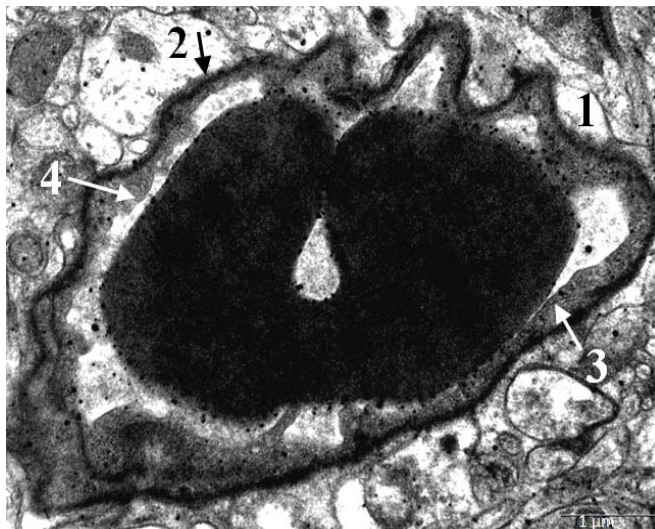


Рисунок 88. – Ультраструктура ГЭБ через 14 суток после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л. Масштабный отрезок 1 мкм. 1- отростки астроцитов, 2 – базальная мембрана; 3, 4 – межэндотелиальные щели

Астроглия была в большинстве случаев без признаков набухания. В отдельных случаях обнаружены фагоцитирующие перициты. Светлые нейроны

обычного вида: ядра содержали эухроматин, ядрышко, типичный набор органелл. В то же время встречались единичные дегенеративные формы нейронов (рисунок 89).

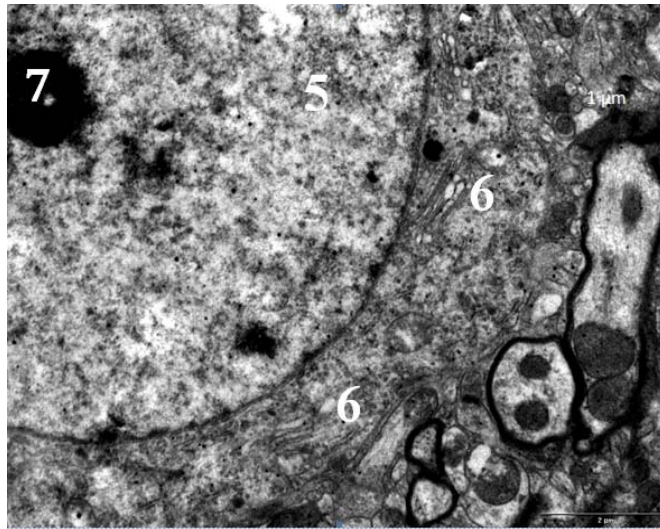


Рисунок 89. – Ультраструктура части светлого нейрона через 14 суток после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л. Масштабный отрезок 2 мкм. 5– ядро, 6 – комплекс Гольджи, 7 – ядрышко

Через 30 суток после введения ОФР по результатам ЭМА нарушения проницаемости ГЭБ не выявлено. Значительное большинство микрососудов имело широкий просвет и содержало тонкодисперсный осмиофильный материал и эритроциты. Периваскулярное пространство было без признаков набухания.

Светлые нейроны находились в разной степени активности и изменения ультраструктуры: большинство ядер содержали эухроматин, в цитосыворотке много рибосом и полисом, КГ хорошо выражен, встречались первичные и вторичные лизосомы.

Проведенный анализ ультраструктуры ГЭБ капилляров неокортекса белых крыс после введения ОФР с концентрацией озона 1,7 мг/л, как и при введении 0,7 мг/л, через сутки показал набухание эндотелия капилляров и базальной мембраны. В эндотелиоцитах наблюдалось повышенное содержание пиноцитозных пузырьков, набухшие митохондрии. Межэндотелиальные щели были расширены (25 нм). Отмечалось увеличение периваскулярных отростков астроглии, их набухание и вакуолизация (рисунок 90).

В ряде случаев увеличенные отростки астроцитов, как футляр, окружали сосуд, сдавливая его. У большинства диаметр капилляров был существенно

меньше, чем у интактных животных ($p < 0,01$). В капиллярах находилась как обычная кровь, так и плазма, микроагрегаты эритроцитов, в единичных наблюдениях выявлена адгезия эритроцитов к эндотелию. Перициты были с признаками фагоцитоза.

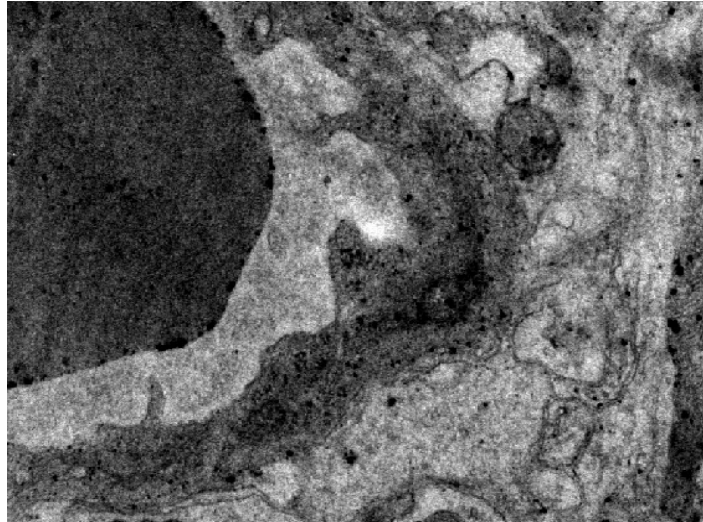


Рисунок 90. – Ультраструктура ГЭБ через 30 суток после введения ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л. Масштабный отрезок 1 мкм. 1 – отростки астроцита

Часть светлых нейронов была типичного вида, часть имела признаки незначительного диффузного хроматолиза (редукция части органелл, набухание МХ, удлинение цистерн ГЭПР, уменьшение рибосом и полисом) и нейроны с признаками активации белоксинтезирующих органелл (увеличение ядрышка, эктапирование его к кариолемме, пролиферация и гипертрофия КГ, увеличение рибосом и полисом). Наряду с этим встречались пикнотичные и гиперхромные нейроны.

Через 14 суток у животных этой группы нарушение проницаемости ГЭБ сохранялось, которое проявлялось набуханием эндотелия капилляров и базальных мембран, лизисом отдельных её участков и извитым контуром, отёком периваскулярной глии. Просвет сосудов оставался узким ($p < 0,01$). 1/3 светлых нейронов содержали ядрышки, ядра с инвагинациями, иногда глубокими. Отмечался диффузный хроматолиз отдельных нейронов.

На 30-е сутки у этих животных нарушение структуры ГЭБ было выражено в виде значительного набухания и увеличения отростков астроцитов, очагового

расплавления базальных мембран, набухания эндотелия и расширения межэндотелиальных щелей до 40 нм (рисунок 91).



Рисунок 91. – Ультраструктура ГЭБ через 30 суток после введения ОФР с концентрацией озона 1,7 мг/л. Масштабный отрезок 1 мкм. 1– отростки астроцитов, 2 – базальная мембрана, 3 – межэндотелиальные щели

В этот период отмечалось появление тёмных и дегенеративных форм нейронов с явлениями хроматолиза цитосыворотки (снижение содержания ультраструктур и включений)(рисунок 92), набухания митохондрий (деструкция крист, просветление матрикса), редукции комплекса Гольджи.

Результаты исследования показали, что после однократного введения ОФР в концентрации 0,7 мг/л через 15 мин происходит изменение ультраструктуры ГЭБ, что проявляется частичной редукцией межэндотелиальных плотных контактов (tight junction), расширением межклеточных щелей, набуханием базальной мембраны и части отростков астроцитов в перикапиллярной области, что является морфологическим субстратом повышения сосудистой проницаемости.

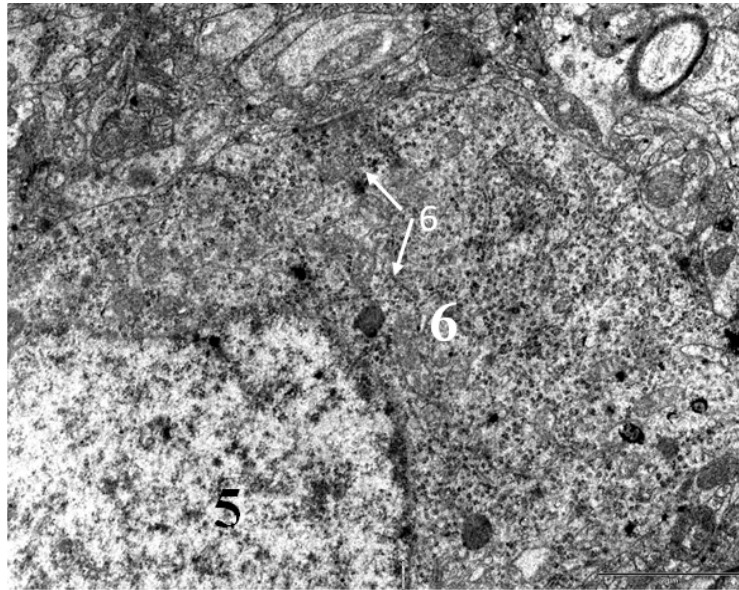


Рисунок 92. – Ультраструктура светлого нейрона через 30 суток после введения ОФР с концентрацией озона 1,7 мг/л. Масштабный отрезок 1 мкм. 5 – ядро нейрона, 6 – хроматолиз

Межэндотелиальные плотные контакты - это динамичные структуры, способные за счет ремоделирования цитоскелета изменять размеры межклеточных щелей в течение минут, а перикапиллярная реакция астроцитов, прилежащих к капиллярам, свидетельствовала о повышении проницаемости стенок капилляров (Боголепов Н.Н., 1979; Чехонин В.П. и соавт., 2012; Балканов А.С., 2014; Maurya S.K., 2014; Rodrigues S.F., et al., 2015). Изменения ультраструктуры нейронов носили адаптивный характер в ответ на воздействие окислительного фактора и характеризовались увеличением активности белоксинтезирующих органелл. Через сутки после воздействия ОФР нарастало повышение проницаемости ГЭБ: расширение межэндотелиальных щелей до 30 нм, выраженное набухание перекапиллярной астроглии. На 14 сутки структура ГЭБ частично нормализовалась: эндотелий капилляров имел плотные межклеточные контакты. Сохранялось небольшое набухание отростков астроцитов. Вариабельность ультраструктуры нейронов коры характерна и для интактных животных (Кислицын Ю.В., 1999). К 30 суткам ультраструктура ГЭБ восстанавливалась полностью.

Повышение концентрации озона в ОФР, вводимом интракаротидно до 1,7 мг/л, также приводит к повышению проницаемости ГЭБ, однако его восстановление не завершалось к 30 суткам. Кроме того, были более выражены изменения микроциркуляции, ультраструктуры нейронов и глии.

Таким образом, интракаротидное введение ОФР вызывает длительное, до суток, повышение проницаемости ГЭБ с последующим его восстановлением через 14 суток и полным восстановлением через 30 суток, что имеет перспективы широкого клинического применения как в нейроонкологии, так и в неврологии. Известно, что активно пролиферирующие опухолевые клетки находятся в разных фазах митотического цикла. Вместе с тем, ряд химиопрепаратов воздействуют на опухолевые клетки только в определенные фазы клеточного цикла [Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И., 1984]. Кроме того, часть опухолевых клеток, не подвергающихся делению, могут длительно находиться вне митотического цикла в фазе G0 (Переводчикова Н.И., 1993). Таким образом, кратковременное раскрытие ГЭБ при интракаротидной химиотерапии не позволяет оказывать влияние на эти пулы клеток. Однократное интракаротидное введение ОФР вызывает увеличение проницаемости ГЭБ до суток, что сможет обеспечить более эффективное воздействие химиопрепаратов на клетки опухолей головного мозга во все фазы клеточного цикла, улучшая результаты лечения больных злокачественными опухолями головного мозга. Кроме того, применение данной методики может повысить накопление препаратов в ткани мозга, плохо проникающих через ГЭБ, и в лечении ряда неврологических заболеваний, что имеет перспективы широкого клинического применения данного метода как в нейроонкологии так и в неврологии.

По данной методике получен патент на изобретение № 2391107 от 10.06.2010г. «Способ повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера»

4.2. Полихимиосенсибилизация в лечении ЗОГМ

Большинство исследований по преодолению резистентности ЗОГМ к химиотерапии ограничиваются обычно устранением какой-либо одной из

многочисленных причин. Это побудило нас к изучению возможности применения нескольких разных по механизму действия методов усиления противоопухолевого действия химиопрепаратов (полихимиосенсибилизации).

Важной причиной формирования устойчивости опухолей головного мозга к химиотерапии является гипоксия (Левченко Л.И., 1991; Liang B.C., 1996; Pistollato F., 2014). Механизм действия лучевой терапии и ряда химиопрепаратов связан с образованием СРС, способных развивать цепные реакции, через которые и реализуется цитотоксический эффект (Тараховский А.И., 1983; Зозуля Ю.А., 1998). Повышение оксигенации опухолей повышает их чувствительность к химиотерапии.

Известно, что вещества, содержащие металлы переменной валентности, избирательно накапливаются в опухолях головного мозга, и их применяют с целью модификации химиотерапии опухолей (Усов В.Ю., 2001). Избирательно накапливаясь в опухолевых клетках, они катализируют расщепление кислород-кислородных, кислород-водородных связей с образованием СРС. Эта методика получила название «темновой» химиотерапии. Доказано, что гипероксия и стимуляция прооксидантных процессов в опухоли повышает эффективность химиотерапии (Hochberg F., 1997; Lee D., 2014).

Веществами, повышающими парциальное напряжение кислорода в тканях, служащие одновременно источниками СРС, являются ПВ и ОФР. Распадаясь в сосудистом русле, они вызывают повышение pO_2 в тканях, стимулируют прооксидантные процессы в опухоли за счет образования свободно-радикальных соединений, кроме того, ОФР при внутриартериальном введении раскрывает ГЭБ (Медяник И.А. и соавт., 2009). В экспериментальных и клинических исследованиях эффективности использования интракаротидного введения ПВ при лечении опухолей мягких тканей головы и шеи было показано усиление противоопухолевого действия химиотерапии (Горбацевич Л.И., 1972). Данных об изучении влияния озона на ткань головного мозга при комбинированном лечении глиальных опухолей в литературе нет.

Нами изучены возможности комбинированного применения ПВ, ОФР, фотосенса, применяемого при ФДТ опухолей, и терафтала, применяемого при бинарной терапии рака, в комплексном лечении глиальной опухоли 101,8 в качестве модификаторов химиотерапии в условиях *in vitro* и *in vivo*.

4.2.1 Реакция опухолевой ткани на воздействие озонированного физиологического раствора и комплексов переходных металлов при химиотерапии. Исследования *in vitro*

В контрольных культурах опухоли на вторые сутки культивирования сформировалась обширная плотноклеточная зона роста, на периферии переходящая в монослой, далее зона роста разрыхлялась, образуя сетевидную структуру. На окрашенных препаратах хорошо прослеживался полиморфизм опухолевых клеток, большая часть которых униполярной, треугольной и полигональной формы с зернистой цитоплазмой и несколькими антенновидными отростками. Ядра клеток значительно варьировали по величине. Наблюдались многоядерные и гигантские многоядерные клетки. Среди клеток наблюдались митозы на различных стадиях. Митотический индекс в различных участках роста колебался от 0,6 до 2,3%. Количество спонтанно дегенерирующих клеток достигало 3-5% (рисунок 93 А; Б).

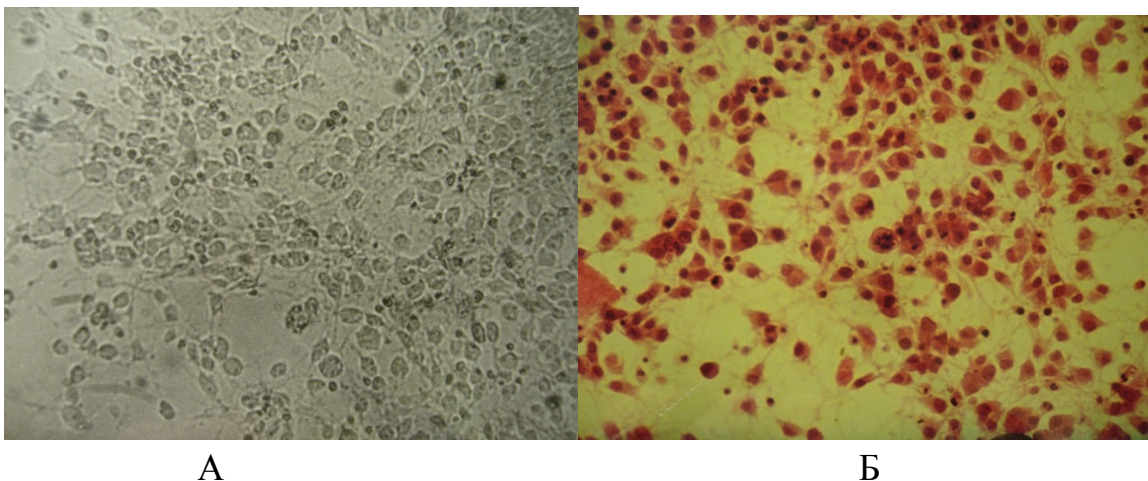
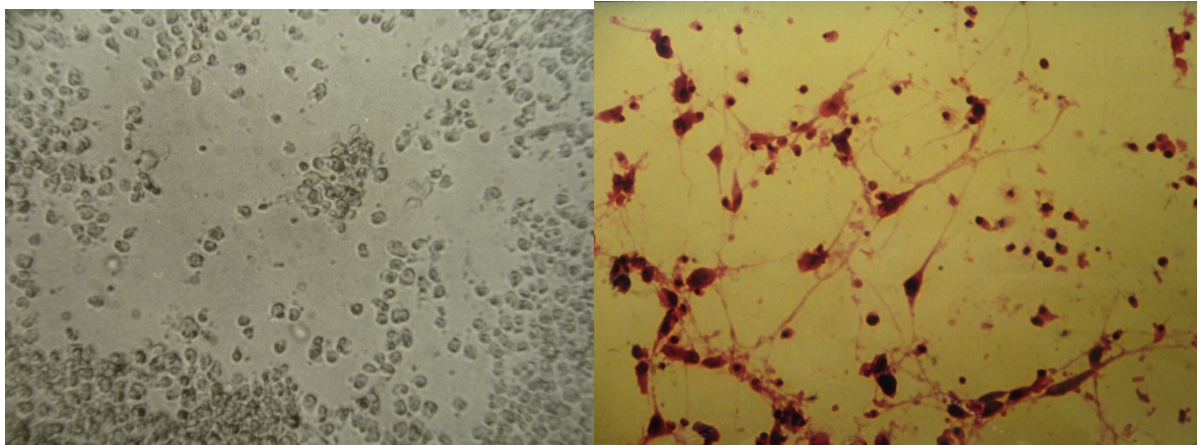


Рисунок 93.–Контроль опухоли 101.8. А – живая культура. Ув. X 400. Б – окраска гематоксилин-эозин. Ув. X 400

Добавление в клеточную культуру $0,05 \pm 0,01$ мл 3% ПВ вызывало развитие дегенеративных изменений в культуре клеток. Отмечается отчетливое разрежение клеточного пласта культивируемой опухоли. Происходило округление клеток с утратой отростков и межклеточных связей. В результате этого клеточная плотность зоны роста культур заметно снижалась. Клеточные массивы опухоли распадалась на отдельные островки, клетки утрачивали отростки. В таких культурах средняя клеточная плотность уменьшается вдвое по сравнению с контрольными культурами (рис 94 А; Б).

Добавление в культуру $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025$ этопозиды вызывало развитие изменений, подобных при добавлении ПВ. Отмечалось отчетливое разрежение клеточного пласта культивируемой опухоли.

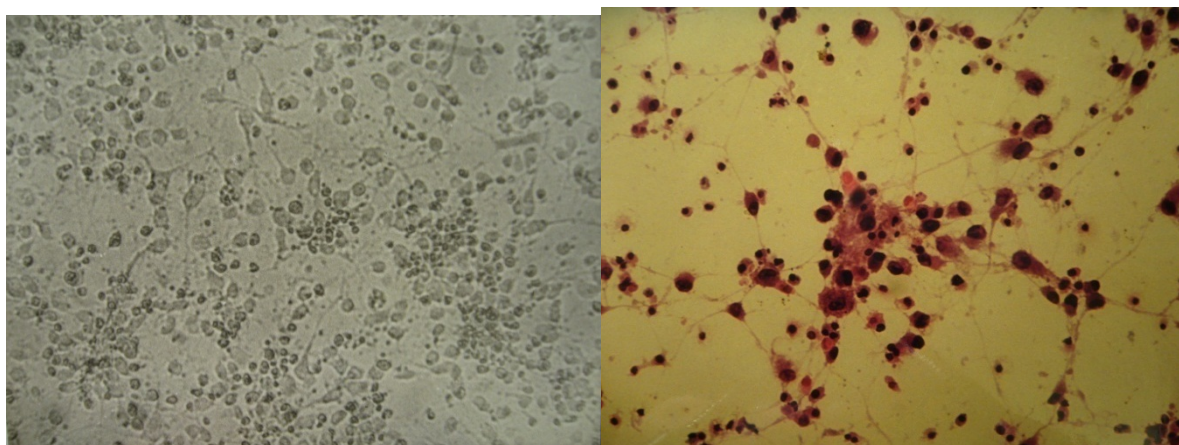


А

Б

Рисунок 94. Воздействие на культуру опухолевых клеток ПВ. А - Живая культура. Ув. X 200. Б - окраска гематоксилин-эозин. Ув X 400

Происходило округление части клеток с утратой отростков и межклеточных связей. В результате этого клеточная плотность зоны роста культур заметно снижалась. Клеточные массивы опухоли распадалась на отдельные островки, клетки утрачивали отростки. В таких культурах средняя клеточная плотность уменьшалась вдвое по сравнению с контрольными культурами. Тем не менее, через 24 часа инкубации клеточно-тканевые комплексы в основном сохраняют жизнеспособность на большом протяжении (рисунок 95 А; Б).

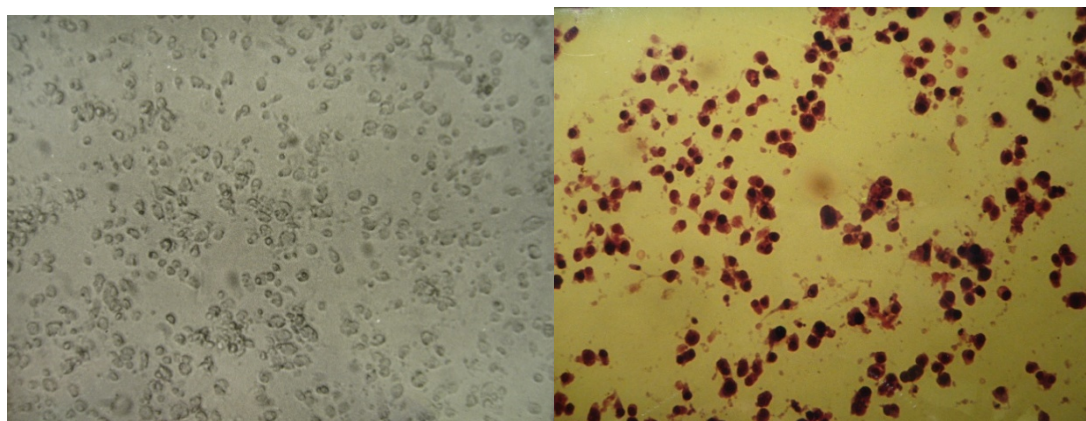


А

Б

Рисунок 95. – Воздействие на культуру опухолевых клеток этопозид. А - Живая культура. Ув. X 200 Б - окраска гематоксиллин-эозин. Ув. X 400

Добавление в культуру $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025$ этопозид и $0,05 \pm 0,01$ мл 3% ПВ вызывало развитие грубых изменений. Клетки с сохранной структурой практически отсутствовали. На подложке оставшиеся прикрепленными клетки обнаруживали грубые дегенеративные изменения вплоть до клеток-теней (рисунок 96 А; Б).



А

Б

Рисунок 96. – Воздействие на культуру опухолевых клеток ПВ и этопозид. А - живая культура. Ув. X 200. Б- окраска гематоксиллин эозин. Ув. X 400

Добавление в опухолевую культуру $0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007$ ОФР заметных нарушений в структуре клеток не вызывает, что подтверждается морфометрически: клеточная плотность, митотическая активность и доля спонтанно

дегенерирующих клеток в этих культурах подобны контрольным (рисунок 93 А; Б).

При добавлении в клеточные культуры $0,025 \text{ мг} \pm 0,005$ фотосенса (рисунок 97 А; Б) и $0,0125 \text{ г} \pm 0,0025$ терафтала (рисунок 98 А; Б), отмечалось отчетливое разрежение клеточного пласта культивируемой опухоли. Происходило округление клеток с утратой отростков и межклеточных связей. В результате этого клеточная плотность зоны роста культур снижалась. Клеточные массивы опухоли распадалась на отдельные островки, состоящие в основном из сохранных отростчатых клеток. В этих культурах средняя клеточная плотность на единицу площади (поле зрения микроскопа при увеличении 400X) уменьшалась вдвое по сравнению с контрольными культурами (рисунки 97 и 98 А; Б).

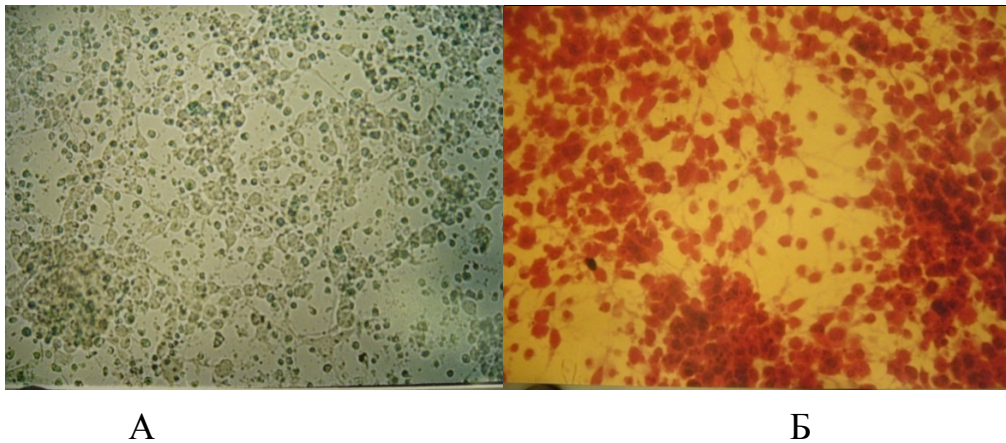


Рисунок 97. – Воздействие на клеточную культуру фотосенса. А – живая культура. Увеличение X 200. Б – окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 400

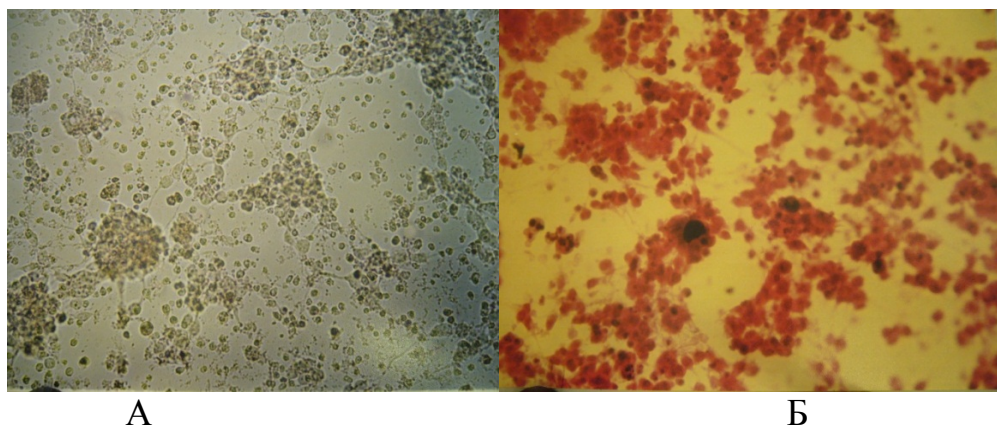


Рисунок 98. – Воздействие на клеточную культуру терафтала. А – Живая культура. Увеличение X 200. Б – окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 400

Добавление в опухолевую культуру $0,0125 \text{ г} \pm 0,0025$ Тф и $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025$ Эт вызывало более резкий распад зоны роста культур с потерей 50-60% клеток вследствие гибели и десквамации их с подложки. Клетки без отростков. В

просветах опустошения определялись полностью разрушенные клетки (клетки - тени) с наличием в них следов фотосенсибилизатора зеленого цвета (рисунок 99 А; Б).

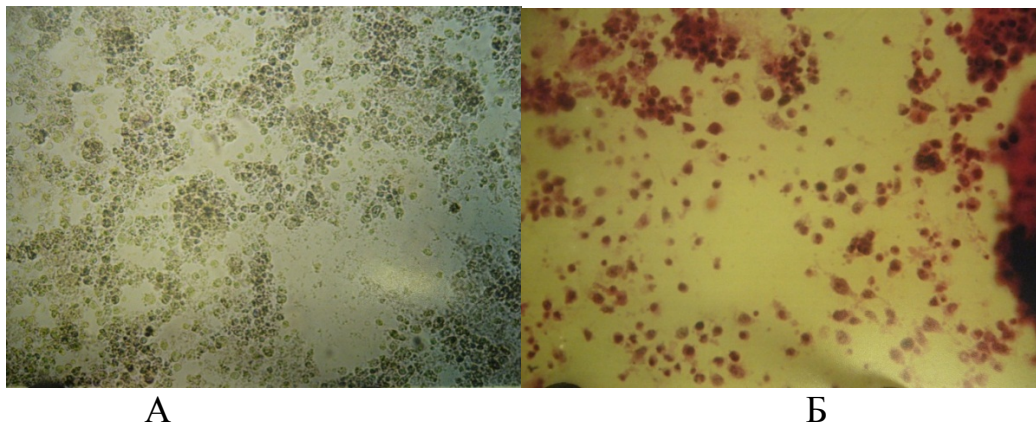


Рисунок 99. – Воздействие на клеточную культуру терафтала и этопозид. А – Живая культура. Увеличение X 200. Б – окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 400

Комбинация $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025 \text{ Эт}$ и $0,025 \text{ мг} \pm 0,005 \text{ Фс}$ вызывала распад зоны роста, определялся мелкоглыбчатый детрит, клетки были окрашены в зеленый цвет, округлые, без отростков, отмечалась десквамация клеток (рисунок 100 А; Б).

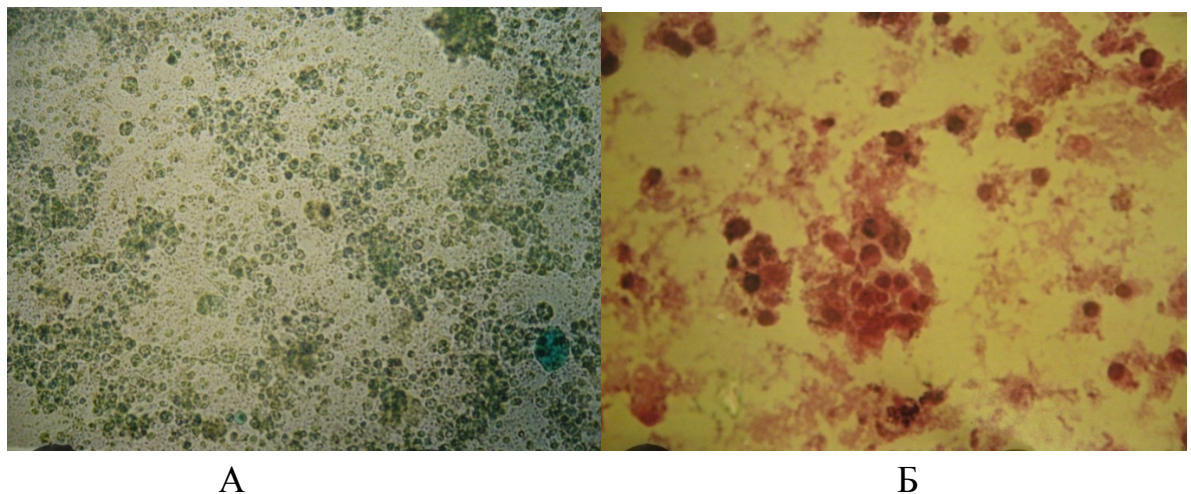


Рисунок 100. – Воздействие на клеточную культуру фотосенса и этопозид. А – живая культура. Увеличение X 200. Б – окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 800

При изучении действия $0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007 \text{ ОФР}$ с $0,0125 \text{ г} \pm 0,0025$ терафтала клеточный состав, структура клеточных разрастаний и клеточная плотность культур подобны культурам опухоли с препаратом этопозид (рисунок 95 А; Б). То есть, существенного усиления действия этих препаратов на опухолевую культуру при добавлении ОФР не происходит.

Более выраженные изменения в клеточных культурах происходили при взаимодействии $0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007 \text{ ОФР}$ с $0,025 \text{ мг} \pm 0,005 \text{ Фс}$. Отмечалось усиление цитотоксического действия. Зона роста образовывала лакуны за счет потери связей между собой клеток, утративших отростки. Наблюдалась отчетливая дискомплексация и фрагментация зоны роста культур на отдельные клеточные компоненты, состоящие из округленных клеток, утративших отростки. Между ними сохранялись комплексы из отростчатых клеток. Накопление фотосенсибилизатора наблюдалось в цитосыворотке части клеток в виде голубоватой, мелкодисперсной, реже глыбчатой зернистости. В таких культурах средняя клеточная плотность на единицу площади (поле зрения микроскопа при увеличении 400X) уменьшалась вдвое по сравнению с контрольными культурами (рисунок 101 А; Б).

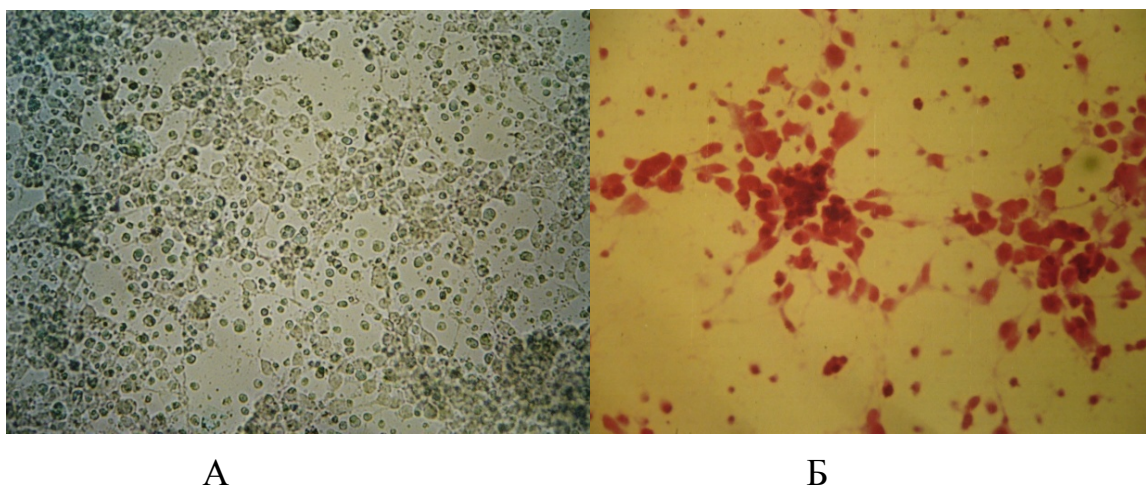
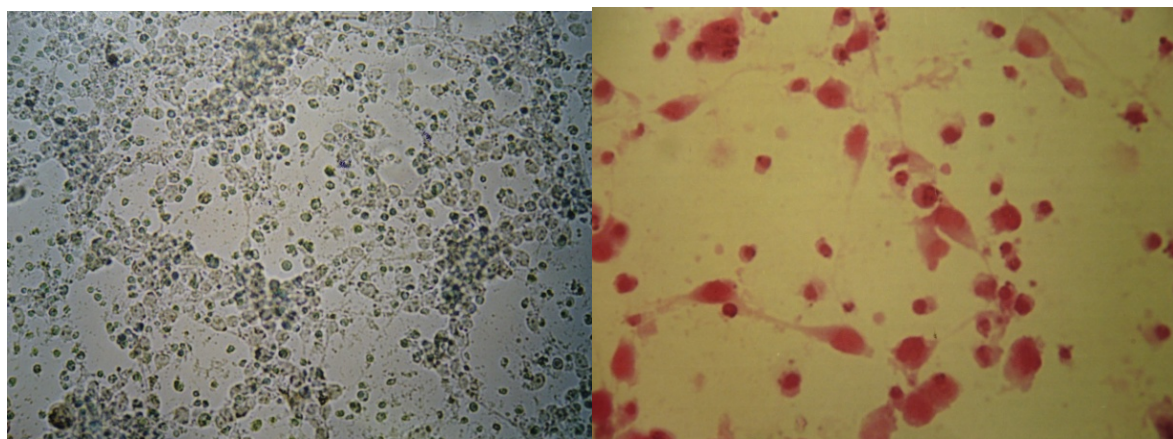


Рисунок 101. – Воздействие на клеточную культуру фотосенса и ОФР. А - живая культура. Увеличение X 200. Б – окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 400

При изучении действия $0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007 \text{ ОФР}$ с $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025 \text{ Эт}$ клеточный состав, структура клеточных разрастаний и клеточная плотность культур подобны культурам опухоли с препаратом этопозид (рисунок 95 А; Б).

При добавлении в культуру $0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007 \text{ ОФР}$, $0,025 \text{ мг} \pm 0,005 \text{ Фс}$, $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025 \text{ Эт}$ отмечается достаточно выраженный распад зоны роста, клетки без отростков, округлые с накоплением фотосенса зеленого цвета (рисунок 102 А; Б).

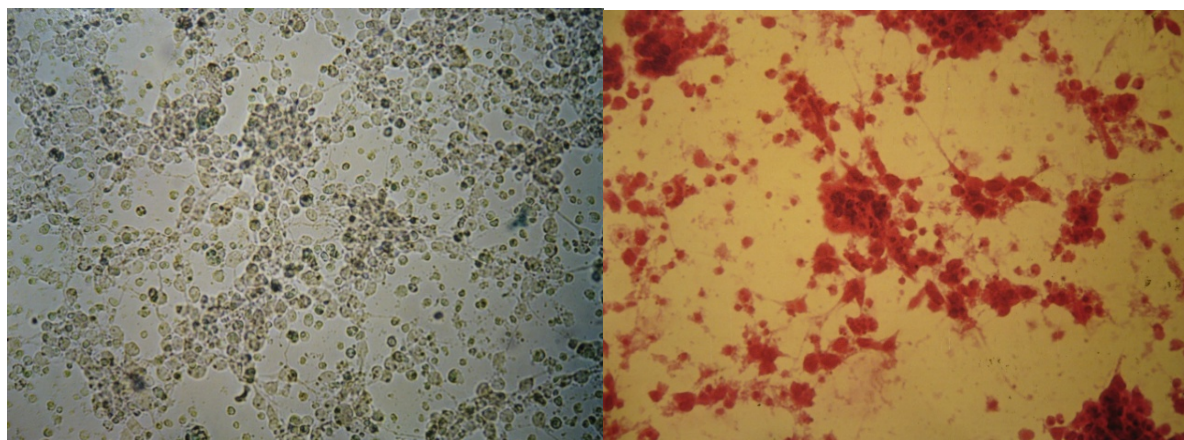


А

Б

Рисунок 102. – Воздействие на клеточную культуру ОФР+Фс+Эт. А - живая культура. Увеличение X 200. Б - окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 800

При добавлении в культуру $0,00035 \text{ мг} \pm 0,0007$ ОФР, $0,0125 \text{ г} \pm 0,0025$ терафтала, $0,0125 \text{ мг} \pm 0,0025$ Эт выявляется распад зоны роста, дегенерация клеток, клетки без отростков, мелкие, выявляется детрит (рисунок 103 А; Б).



А

Б

Рисунок 103.– Воздействие на клеточную культуру ОФР+Тф+Эт. А – живая культура. Увеличение X 200. Б – окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 400

При проведении нами идентичных исследований ПВ, ОФР, Тф и ФС с цисплатиной и нидраном также выявлены изменения клеточных культур, в большинстве групп изменения были более выражены по сравнению с добавлением этопозида.

Необходимо отметить, что при добавлении только ТФ в культуру тканей он не накапливается в клетках. При комбинации его с химиопрепаратами и с ОФР особенно отмечается его появление в клетках.

Проведенный эксперимент показывает, что повышение оксигенации опухоли и стимуляция прооксидантных процессов в ней вызывает усиление противоопухолевого воздействия химиопрепаратов. Цитотоксический эффект усиливается по мере увеличения количества применяемых в комбинированном лечении противоопухолевых методов. Так, максимальный противоопухолевый эффект химиотерапии выявляется при комбинации веществ, повышающих оксигенацию и генерирующих СРС - ПВ и ОФР с веществами, содержащими металлы переменной валентности - фотосенс или терафтал.

4.2.2. Временное повышение проницаемости ГЭБ и полихимиосенсибилизация в лечении перевиваемых опухолей головного мозга. Исследование in vivo

В лечении экспериментальной ЗОГМ мы применили метод полихимиосенсибилизации. С этой целью мы использовали три вещества: ОФР; Фс или Тф и химиопрепарат Эт. ОФР, как было показано нами ранее, раскрывает ГЭБ (патент на изобретение № 2391107), повышая возможность накопления Фс или Тф и химиопрепаратов в опухоли мозга. Кроме того озон – нестойкое вещество, распадающееся в сосудистом русле с образованием разных СРС и разных форм кислорода (молекулярного, атомарного, синглетного кислорода, ПВ, гидроперекиси, и др.). Поэтому, озон может являться уникальным источником кислорода для клеток, находящихся в состоянии гипоксии. При парентеральном применении ОФР происходит дозированная активация прооксидантных и АОС организма, повышается региональная оксигенация тканей (Атясов Н.И., и соавт., 2000; Алехина С.П., 2003).

Таким образом, при интракаротидном введении ОФР мы достигали повышения pO_2 в опухоли и стимуляции прооксидантных процессов в ней.

Известно также, что разложение ПВ, образующейся при распаде озона на СРС усиливается при наличии катализаторов. Эту роль могут выполнять

соединения металлов переменной валентности - меди, железа, кобальта, диоксид марганца и некоторые другие вещества (Rollet-Labelle E., 1998; Sagripant J.L., 198)]. Кроме того, эти металлы, накапливаясь в опухолевых клетках, уже сами могут вызывать усиление противоопухолевого действия химиопрепаратов и лучевой терапии (Зінченко В.А. и соавт., 1998; Зозуля Ю.А. и соавт., 2000).

С целью дополнительного усиления противоопухолевого действия химиопрепаратов на фоне гипероксии, в качестве химиосенсибилизатора мы использовали Фс или Тф. Фс избирательно накапливается в опухолях головного мозга и используется при ФДТ. Тф, как и Фс являются соединениями, содержащими металлы: Тф – металлокомплекс кобальта, Фс – сульфированный фталоцианин алюминия.

Общая выживаемость животных в контрольной группе составила 14 дней.

Общая выживаемость животных во второй группе составила 15,6 дня, что практически соответствует общей выживаемости животных с опухолями в контроле. В третьей группе – 14,7 дня, что также практически не превышает среднюю продолжительность жизни животных в контрольной группе. В четвертой группе – 19,7 дня, что на 5,7 дня превышает общую выживаемость животных в контрольной группе. В пятой группе – 20,2 дня, что на 6,2 дня превышает общую выживаемость животных в контрольной группе. В шестой группе – 16,3 дня, что на 2,3 дня превышает общую выживаемость животных в контрольной группе. В седьмой группе составила 21 день, что на 7 дней превышает общую выживаемость животных в контрольной группе. В восьмой группе – 23,4 дня, что на 7,4 дня превышает общую выживаемость животных в контрольной группе. В девятой группе – 27,4 дня, что на 13,4 дня превышает общую выживаемость животных в контрольной группе.

Полученные результаты по общей выживаемости животных в зависимости от способа лечения представлены в таблице 20.

Таблица 20. – Общая выживаемость животных (дни) с экспериментальной опухолью головного мозга 101.8 в зависимости от способа лечения

№	Серия	Порядковый номер животного					М	SD
		1	2	3	4	5		
1	Контроль	14	14	15	14	13	14	0,632
2	Этопозид	15	14	17	16	16	15,6	1,019
3	Терафтал	18	14	13	14	16	15	1,788
4	ОФР+Этопозид	22	16	21	17	19	19*	2,280
5	Терафтал+Этопозид	24	19	18	21	19	20,2*	2,135
6	Фотосенс+Этопозид	19	16	19	15	16	17	1,673
7	ОФР+Фотосенс	22	21	19	20	23	21,2*	1,469
8	ОФР+Фотосенс+Этопозид	27	22	21	24	23	23,4*	2,059
9	ОФР+Терафтал+Этопозид	32	26	25	29	25	27,4*,#	2,727

Примечание: * - группы 5,7,8,9 достоверно различались с группами 1, 2, 3; # - группа 9 достоверно различалась с группами 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, $p < 0,05$.

Однократное интракаротидное введение ОФР вызывает увеличение проницаемости ГЭБ до суток, что обеспечивает более эффективное воздействие химиопрепаратов на клетки опухолей головного мозга во все фазы клеточного цикла, улучшая результаты лечения больных злокачественными опухолями головного мозга.

Мы предположили, что металлокомплексы Тф и Фс могут действовать как катализаторы, накапливаясь в опухоли и усиливая разложение ПВ, способствуя, тем самым, дополнительному образованию активных форм кислорода. Предположение подтвердилось в результате проведенного нами эксперимента (таблица 20, группы 6,7,8). Выявлено, что Фс незначительно усиливает противоопухолевое действие химиопрепарата Эт. Химиосенсибилизирующие свойства Фс усиливаются при комбинации его с ОФР. Наше предположение подтверждается также тем, что при использовании только Фс и ОФР также наблюдается достоверное противоопухолевое действие.

Подобное усиление химиотерапии происходит и при использовании Тф. Так, Тф статистически значимо усиливает противоопухолевое действие Эт. Существенное усиление эффективности химиопрепарата. Эти максимальное увеличение общей выживаемости экспериментальных животных наблюдается при его использовании с ОФР и Тф (таблица 20, группы 5,9).

Кроме того, дозы как терафтала и фотосенса, так и химиопрепарата этопозид при комбинации двух препаратов и при их комбинации с озонированным физиологическим раствором должна быть снижена от обычно применяемых при монотерапии дозировок. Так, доза терафтала при полихимиосенсибилизации составила 2,5-3 мг/кг от 5 мг/кг, применяемой нами при монотерапии. Доза этопозид при комбинации препаратов составила 13 мг/м² (32,5% от исходного), в отличие от 40 мг/м², применяемой при монотерапии.

Кроме усиления противоопухолевого эффекта важно отметить тот факт, что снижение дозы химиопрепарата позволяет снизить токсичность проводимой химиотерапии. Так, попытка увеличения дозы сопровождалась существенным увеличением токсичности и гибелью экспериментальных животных.

Таким образом, ОФР, Фс и Тф обладают химиосенсибилизирующими свойствами. Комбинация этих веществ приводит к усилению противоопухолевой эффективности по сравнению с применением каждого из них в отдельности. Химиотерапия ЗОГМ, в условиях нашего эксперимента, осуществлялась в условиях повышенного напряжения pO_2 в опухолевой ткани и стимуляции прооксидантных процессов в ней с одной стороны и усиления противоопухолевой активности химиопрепаратов за счет использования веществ, содержащих металлы переменной валентности обладающих химиосенсибилизирующими свойствами – Фс или Тф с другой стороны. То есть применялась методика полихимиосенсибилизации, когда для повышения противоопухолевого действия химиопрепаратов использовали повышение напряжения кислорода в тканях опухоли, стимулировали прооксидантные процессы в ней и дополнительно использовали вещества, содержащие

металлокомплексы, которые также повышают чувствительность опухоли к химиотерапии.

Несмотря на активную стимуляцию прооксидантных процессов на фоне гипероксии и химиотерапии, применяемую в нашем методе, риск повреждения мозговой ткани минимален. Жизнедеятельность нервной клетки происходит при постоянном взаимодействии жиров и кислорода, генерации эндогенных АФК и других СРС. Образование СР и ПОЛ – нормальный, постоянно и активно протекающий на определенном стационарном уровне как внутри клетки, так и в межклеточном пространстве физиологический процесс. Окислительные процессы оказывают регулирующее влияние на клеточный метаболизм, АФК и СРС участвуют в митохондриальном и микросомальном окислении, ферментативных реакциях, участвуют в синтезе простагландинов, лейкотриенов, гормонов, тромбоксанов (Новиков В.С., 1996; Биленко М.В., 1989). Процесс ПОЛ является нормальным механизмом обновления клеточных мембран (Каган В.Е., 1981).

Кром того, АО активность мозга намного выше, чем любых других тканей. Так, известно, что уровень стационарного ПОЛ в ткани мозга в 5-6 раз выше чем, в ткани печени (Димант И.Н., 1992). Воздействие на крыс в камере гипербарической оксигенации в 5 Атм уже через 1 час вызывает повышение уровня конечных продуктов ПОЛ в крови, сердце, печени, мышцах, селезенке. Только в мозговой ткани их уровень отмечается даже ниже нормы [Габибов М.М., 1981]. При воздействии ПВ на ишемизированные органы и ткани во всех случаях наблюдалось увеличение СРО. Но только при воздействии на мозг величина хемилюминесценции ишемизированного и интактного мозга существенно не отличались друг от друга (Коган А.Х., 1976). Таким образом, мозг обладает мощным АО резервом, способным нивелировать окислительные процессы и защитить, в том числе от ятрогенно инициированные окислительные процессы.

Использование существующих методов терапии ЗОГМ – лучевая, химиотерапия, иммунотерапия в виде монокомпонентов, или даже их комбинаций, во многом уже исчерпало свою эффективность. Применение нового подхода к лечению этой патологии, основанного на полихимиосенсибилизации в

условиях повышенной проницаемости ГЭБ позволяет повысить эффективность химиотерапии за счет повышения оксигенации опухоли, стимуляции прооксидантных процессов в ней при интракаротидном введении ОФР; и повышения эффективности химиотерапии путем использования препаратов, обладающих химиосенсибилизирующим действием как в нашем исследовании - Фс или Тф. В целом указанный способ позволяет создать наиболее оптимальные биологические условия для проведения химиотерапии, увеличить продолжительность жизни.

Химиотерапия ЗОГМ в последние года стала более эффективной не только благодаря появлению таких новых препаратов, как темозолоамид и бевацезумаб, но и за счет разработки методик сенсибилизации опухолей (Ensign S.P. et al., 2016; Perry J. et al., 2012).

Предлагаемый нами новый подход полихимиосенсибилизации, включающий использование ОФР, Фс или Эт в эксперименте показывает свою эффективность и перспективность.

На данный метод лечения получен патент на изобретение № 2418587 от 20.05.2011. «Способ лечения злокачественных опухолей головного мозга».

ГЛАВА 5. КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В настоящее время сформировался комплексный подход к лечению ЗОГМ, который лежит в основе стандартов, опций и рекомендаций, разработанных ассоциацией нейрохирургов в 2012. За более чем полувековой период применения хирургии, химиотерапии и лучевой терапии в лечении глиальных опухолей созданы и активно используются новые химиотерапевтические препараты, радиотерапевтические установки, развиваются новые интраоперационные технологии. Тем не менее, значимого увеличения общей выживаемости больных не получено (Loureiro L.V., et al., 2015). Это обуславливает необходимость дальнейшего совершенствования как хирургических, так и адъювантных методов комплексной терапии ЗОГМ.

5.1 Принципы хирургического лечения ЗОГМ

Сформированные еще Н.Н. Бурденко основные принципы нейрохирургии – анатомическая доступность и физиологическая дозволенность остаются незыблемыми и в настоящее время, однако развитие и применение новых технологий в нейрохирургии позволяют постоянно совершенствовать хирургические методики и расширять определенные ранее границы анатомической доступности и физиологической дозволенности. Благодаря развитию новых диагностических и интраоперационных нейрохирургических методик в нейроонкологии сформировался определенный объем необходимых предоперационных диагностических мероприятий, интраоперационного применения микрохирургической техники, других вспомогательных интраоперационных и лечебных методик (Altieri R. et al., 2015). Создается впечатление, что современные возможности хирургической нейроонкологии позволяют решить практически любую хирургическую задачу, и каких либо значимых изменений, способных радикально изменить подход к хирургии глиом ожидать в настоящее время вряд

ли возможно. Тем не менее, по-прежнему остается высоким риск осложнений и инвалидизации нейроонкологических больных (Ferrolì P., et al., 2015; Madhusoodanan S., et al., 2015). До сих пор в среде нейроонкологов нет единства в отношении необходимого объема удаления злокачественных опухолей головного мозга, в частности глиобластом. Кажется, что многочисленные исследования уже доказали эффективность и необходимость максимально возможного объема удаления глиобластом, как фактора коррелирующего с выживаемостью больных (Мартынов Б.В. 2013; Almeida J.P. et al., 2015). Но по-прежнему в ряде исследований авторы не выявляют значимой разницы между объемом резекции и ожидаемой медианой продолжительности жизни и отдают предпочтение максимально безопасной резекции глиобластом (Chaichana K.L., et al., 2014; Marko N.F., et al., 2014). Таким образом, с учетом совершенствования методов радио- и химиотерапии по-прежнему дискуссионным остается вопрос целесообразности неуклонного стремления к тотальному удалению опухолей. Обсуждаемым в литературе является и вопрос целесообразности выполнения повторных оперативных вмешательств при злокачественных глиомах, авторы в основном исследовали больных глиобластомами (Chaichana L., et al., 2013; Ortega A., et al., 2016).

При анализе результатов нами было выявлено, что ВП у больных с ЗОГМ при увеличении количества выполненных оперативных вмешательств снижается (рисунок 106 и таблица 20).

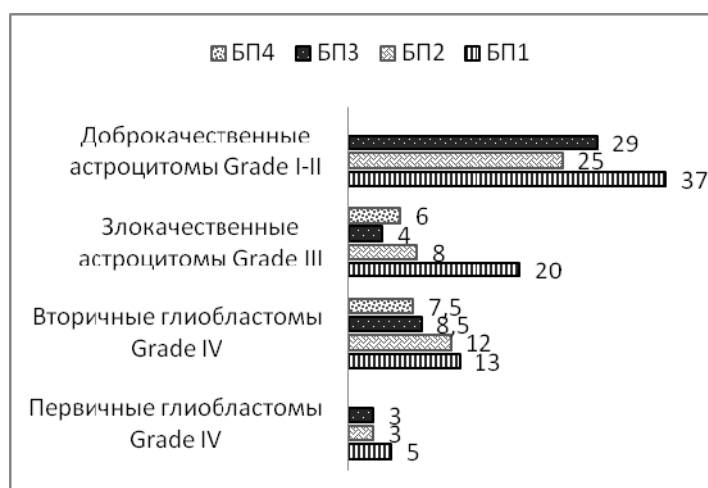


Рисунок 104. – Медиана времени без прогрессирования в зависимости от количества операций

Таблица 21. – Продолжительность времени без прогрессирования в зависимости от количества операций

Опухоли головного мозга	ВП 1	ВП 2	ВП 3	ВП 4
Первичные глиобластомы Grade IV	5(2;8)	3 (2;6)	3 (2;7)	-
Вторичные глиобластомы Grade IV	13 (7;30)	12 (2;25)	8,5 (2,5;15)	7,5 (3,5;13,5)
Злокачественные астроцитомы Grade III	20 (9;38)	8 (4;30)	4 (4;9)	6 (6;26)
Доброкачественные астроцитомы Grade I-II	37 (17,2;108)	25 (19;30)	29 17;37)	-

Chi-square = 1,487196 df = 2 p = 0,59179

Вместе с тем отмечается увеличение МОВ. Так, в группе больных с первичными опухолями Grade IV один раз оперировано 103, дважды – 35, трижды и более – 10 больных. ВП между первой и второй операцией составила 5[2;8] мес., между второй и третьей 3 (2;6) мес., 3 (2;6) мес. после третьей операции и после четвертой операции ВП также составило 3 (2;7)мес. (рисунок 104, таблица 21). При одном удалении первичных опухолей Grade IV у 103 больных МОВ составила 7 (4;12), при двух – 11 (7;15), трех и более – 16 (10;17) мес. (рисунок 105, 106).

p [F-тест Кокса; тест Гехана-Вилкоксона] = 0,03;0,012

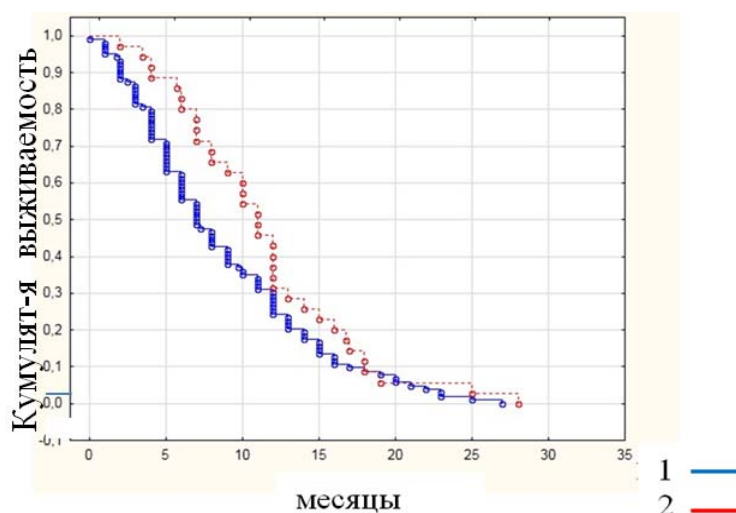


Рисунок 105. – Кривая Каплан-Мейера общей выживаемости в группе первичных глиобластом в зависимости от количества операций. 1– одна операция; 2 – две операции

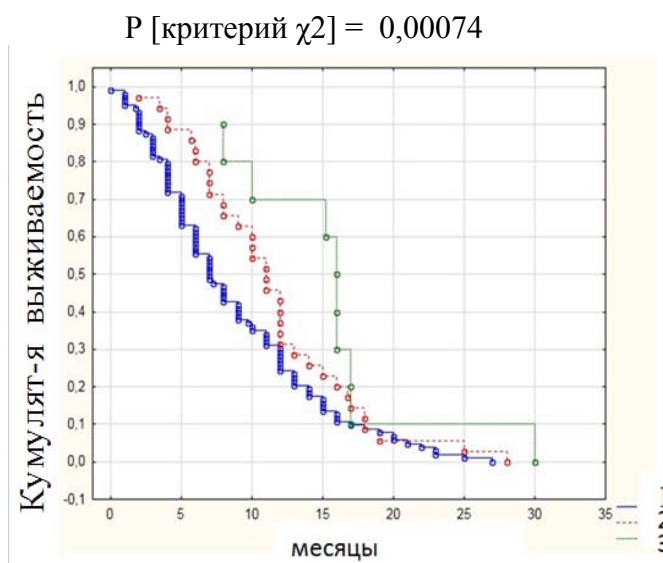


Рисунок 106. – Кривая Каплан-Мейера общей выживаемости в группе первичных глиобластом в зависимости от количества операций. 1– одна операция; 2 – две операции; 3 – три операции

Обе группы оказались идентичными по основным параметрам (таблица 22).

Таблица 22. – Выживаемость в группе первичных глиобластом в зависимости от количества операций в группах 1 и 2

Сравниваемые параметры	Количество операций		p
	1 (n=103) Me (Q1;Q3) ¹	2 (n=35) Me (Q1;Q3) ¹	

Пол, (мужской/женский) ²	49/54	20/15	0,27; 0,43
Возраст, лет ³	54 (47;60)	54 (45;58)	0,71
Объем операции, тотальное/субтотальное/частичное ²	41/54/8	12/22/1	0,42
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	14/89	9/26	0,08; 0,16
Лучевая терапия, есть/нет ²	34/21	18/8	0,34; 0,68
Химиотерапия, есть/нет ²	27/25	17/10	0,24; 0,48
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	9/43	9/18	0,09; 0,18
Комплексное лечение, есть/нет ²	78/25	24/11	0,26; 0,4
Общая продолжительность жизни, мес ⁵	7 (4;12)	11([7;15)	0,03;0,012

Прмечание: ¹Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го процентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ²U-критерий Манна-Уитни; ³Точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса; ⁴критерий χ^2 Пирсона; ⁵F-тест Кокса; тест Гехана-Вилкоксона.

В данном исследовании группы идентичны по основным параметрам (таблица23).

Таблица 23. – Выживаемость в группе первичных глиобластом в зависимости от количества операций

Сравниваемые параметры	Количество операций			p
	1 (n=103) Me (Q1;Q3) ¹	2 (n=35) Me (Q1;Q3) ¹	3 и более (n=10) Me (Q1;Q3) ¹	
Пол, (мужской/женский) ²	49/54	20/15	3/7	0,29
Возраст, лет ³	54 (47;60)	54 (45;58)	37,5 (25;44)	0,04
Объем операции, тотальное/субтотальное/частичное ²	41/54/8	12/22/1	5/3/2	0,25
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	14/89	9/26	2/8	0,24
Лучевая терапия, есть/нет ²	34/21	18/8	7/1	0,33
Химиотерапия, есть/нет ²	27/25	17/10	8/1	0,1
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	9/43	9/18	4/5	0,1
Комплексное лечение, есть/нет ²	78/25	24/11	5/5	0,18
Общая продолжительность жизни, мес ²	7 (4;12)	11 (7;15)	16 (10;17)	0,00074

Примечание: ¹ Ме – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 . ³ критерий Крускала-Воллиса. ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия)

При выполнении двух операций отличий по возрасту у больных не выявлено, но при трех и более операций средний возраст пациентов был наиболее молодым – 37,5 года. В этой же группе отмечена максимальная продолжительность жизни. Влияние этого фактора можно исключить, поскольку в других исследованиях по изучению влияния повторных удалений глиобластом на продолжительность жизни возраст не имел значения (Chaichana L., et al., 2013).

В группе больных вторичными опухолями Grade IV и опухолями Grade III один раз оперировано 39, дважды – 49, трижды и более – 23 больных. ВП между первой и второй операцией составила 13 (7;30) мес., между второй и третьей 12 (2;25) мес., 8,5 (2,5;1) мес. после третьей операции и после четвертой операции ВП составило 7,5 (3,5;13,5) мес. (рисунок 106). МОВ в этой группе больных с вторичными опухолями Grade IV и опухолями Grade III составила 30 (10; 56), 40 (9; 102) и 48 (34; 78) мес. соответственно. МОВ у всех 111 больных данной группы составила 39 (14; 78) мес. (рисунок 107).

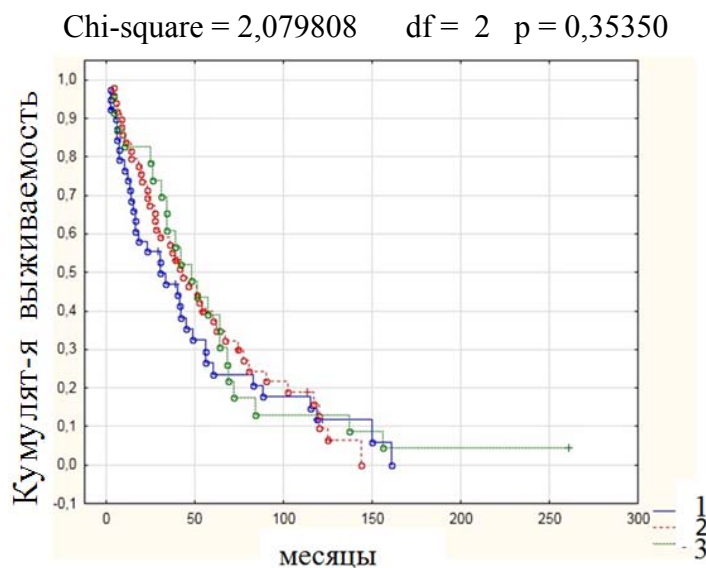


Рисунок 107. – Кривая Каплан-Мейера общей выживаемости в группе вторичных глиобластом и астроцитом Grade III в зависимости от количества операций. 1– одна операция; 2 – две операции; 3 – три операции

При анализе выживаемости отдельно в группах вторичных опухолей Grade IV и Grade III также как и при исследовании их в одной группе достоверного увеличения МОВ не выявлено (таблицы 24 и 25).

Таблица 24. – Выживаемость в группе вторичных глиобластом в зависимости от количества операций

Количество операций	Количество пациентов, n	Медиана выживаемости, месяцы
1	6	26,5 (12; 56)
2	23	37 (9; 62)
3 и более	14	49,5 (34; 68)
Всего	43	39 (20; 6)]

Chi-square = 1,464287 df = 2 p = 0,48089

Таблица 25. – Выживаемость в группе астроцитом со степенью анаплазии Grade III в зависимости от количества операций

Количество операций	Количество пациентов, n	Медиана выживаемости, месяцы
1	33	30 (10; 56)
2	26	47 (24; 102)
3 и более	9	34 (34; 78)
Всего	68	39,5 (14; 78)

Chi-square = 2,079808 df = 2 p = 0,35350

В группе больных опухолями Grade I - II один раз оперировано 32, дважды – 6, трижды и более – 3 больных. ВП между первой и второй операцией составила 37 (17,2; 108) мес., между второй и третьей 25 (19; 30) мес., 29 (19; 30) мес., после третьей операции и после четвертой операции ВП составило 7,5 (3,5; 13,5) мес. (рисунок 104).

Медиана общей выживаемости (МОВ) у больных с опухолями Grade I-II составила 85 (24; 131) мес. При одном удалении опухоли МОВ составила 77 (25; 128) мес., при двух – 51 (11; 97), трех и более - 145 (84; 149) мес. (таблица. 26).

Таблица 26. – Выживаемость в группе астроцитом с анаплазией I-II в зависимости от количества операций

Количество операций	Количество пациентов, n	Медиана выживаемости, месяцы
1	32	77 (25; 128)
2	6	51 (11; 97)
3 и более	3	145 (84; 149)
Всего	41	85 (24; 131)

Chi-square = 3,008050 df = 2 p = 0 ,22225

В данной группе не получено достоверных результатов, что может быть обусловлено небольшой выборкой пациентов.

При изучении зависимости МОВ от количества выполненных оперативных вмешательств нами выявлено, что МОВ у всех больных ЗОГМ увеличивается, но достоверное увеличение выявлено только в группе больных первичными опухолями Grade IV.

По нашим данным, при анализе результатов лечения больных со ЗОГМ с выживаемостью коррелировал объем удаления опухолей. Так, у 58 больных с первичными опухолями Grade IV оперативные вмешательства выполнены с тотальным удалением, субтотальное удаление опухолей было выполнено 79, частично опухоли были удалены у 11 больным. МОВ составила 12 (7;16); 8 (5;12); 4 3;13) мес. соответственно (рисунок 108).

p = 0,00797

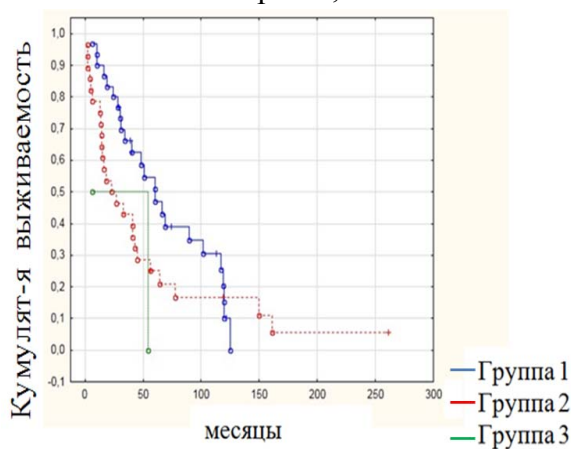


Рисунок 108. – Кривая Каплан-Мейера выживаемости в группе первичных глиобластом в зависимости от объема удаленной опухоли. Группа 1 – тотальное; группа 2 – субтотальное; группа 3 – частное удаление

По основным параметрам группы сопоставимы. Вместе с тем, по ряду параметров в группах есть отличие. Известно, что ФДТ способствует увеличению выживаемости при тотальном удалении опухолей. По нашим данным, минимальному количеству больных проведено ФДТ с частичным удалением опухолей и в этом случае отмечена минимальная продолжительность жизни. ЛТ в нашем наблюдении меньше всего назначалась при частичном удалении опухолей, при этом также наблюдалось минимальная МОВ. Объем удаления опухолей в 2000-2010х годах оценивался преимущественно нейрохирургом визуально без использования МРТ или КТ с контрастом в послеоперационном периоде. Количество больных, получавших химиотерапию, лучевую терапию и комбинированное лечение в послеоперационном периоде чаще всего назначалось при тотальном или субтотальном удалении опухолей, когда регрессирует гипертензионный синдром и КЖ позволяет проводить терапию и снижалось прямо пропорционально уменьшению объема удаления. Поскольку при частичном и субтотальном удалении ожидаемый эффект от проведения противоопухолевого лечения низкий, то и терапия этим группам больных назначалась реже чем при тотальном удалении. Это могло оказать влияние на продолжительность жизни больных (таблица 27).

Таблица 27. – Выживаемость в группе первичных глиобластом в зависимости от объема удаления опухоли

Сравниваемые параметры	Объем удаления			p
	Тотальное (n=58) Me((Q1;Q3) ¹	Субтотальное (n=7)] Me (Q1;Q3) ¹	Частичное (n=11) Me (Q1;Q3) ¹	
Пол, [мужской/женский] ²	26/32	42/37	4/7	0,43
Возраст, лет ³	51 (41;58)	55 (46;60)	53 (48;58)	
Тактика резекции опухоли, по перифокальной зоне/от центра ²	30/28	25/54	4/7	0,058
Количество операций, одна/две/три и более ²	41/12/5	54/22/3	8/1/2	0,259
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	17/41	7/72	1/10	0,005
Лучевая терапия, есть/нет ²	30/28	28/51	1/10	0,02

Химиотерапия, есть/нет ²	27/32	17/62	8/3	0,1
Химиотерапия темодалом, сть/нет ²	14/45	8/71	0/11	0,03
Комбинированное лечение, есть/нет ²	11/47	4/75	0/11	0,02
Общая продолжительность жизни, мес ²	12 (7;16)	8 (5;12)	4 (3;13)	0,0079

Примечание: ¹ Ме – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го процентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 ; ³ критерий Крускала-Воллиса; ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия)

Достоверные результаты зависимости между объемом удаления и выживаемостью выявлены у больных с астроцитомами со степенью анаплазии Grade III (рисунок 109).

В данном исследовании группы были сопоставимы по основным параметрам (таблица 28).

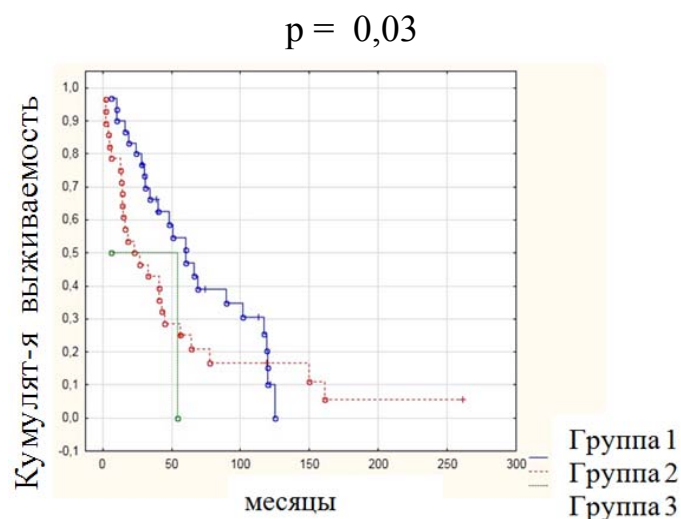


Рисунок 109. – Кривая Каплан – Мейера выживаемости в группе астроцитом со степенью анаплазии Grade III в зависимости от объема удаления опухоли. Группа 1 – тотальное; группа 2 – субтотальное; группа 3 – частное удаление

Таблица 28. – Выживаемость в группе астроцитом Grade III в зависимости от объема удаленной опухоли

Сравниваемые параметры	Объем удаления			p
	Тотальное (n=30) Ме (Q1;Q3) ¹	Субтотальное (n=28) Ме (Q1;Q3) ¹	Частичное (n=2) Ме (Q1;Q3) ¹	
Пол, [мужской/женский] ²	17/13	13/15	1/1	0,64
Возраст, лет ³	44 (33;50)	44 (34,5;52,5)	53,5 (39;68)	

Тактика резекции опухоли, по перифокальной зоне/от центра ²	10/20	9/19	0/2	0,69
Количество операций, одна/две/три и более ²	11/14/4	16/7/4	1/1/0	0,86
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	4/26	6/22	0/2	0,72
Лучевая терапия, есть/нет ²	16/8	11/7	0/1	0,32
Химиотерапия, есть/нет ²	14/9	6/11	0/1	0,2
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	5/18	3/14	0/1	0,25
Комплексное лечение, есть/нет ²	11/19	10/18	0/2	0,4
Общая продолжительность жизни, мес ²	49,75 (29;102)	25 (13,75;56,0)	30 (6;54)	0,03

Примечание: ¹ Ме – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го процентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 ; ³ критерий Крускала-Воллиса; ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия).

У больных опухолями Grade I-II также отмечено увеличение МОВ в зависимости от объема удаления опухоли. Однако результаты недостоверны (таблица 30).

Таблица 30. – Выживаемость в группе больных астроцитомами со степенью анаплазии Grade I-II в зависимости от объема операции

p = 0,34

Группа	Количество пациентов, n	Медиана выживаемости, месяцы
1 (тотально)	30	87 (32;119)
2 (субтотально)	39	39 (16;125)
Всего	69	

Недостоверные результаты получены также при анализе зависимости выживаемости от объема резекции опухолей у больных вторичными глиобластомами.

С метастатическими опухолями было 35 больных, 28 с известным катамнезом. У 19 больных с метастазами опухоли были удалены тотально. При тотальном удалении метастазов 19 больным МОВ составила 5,5(2,3;23,0)

мес. Субтотально и частично было выполнено 9 оперативных вмешательств. В этой группе МОВ составила 4,4 (3,1; 6,0) мес. (рисунок 110).

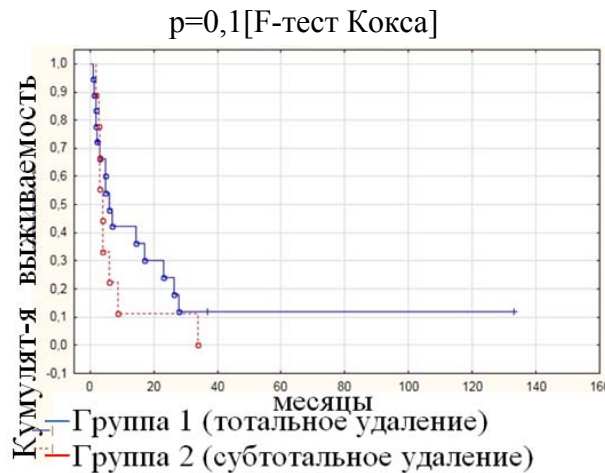


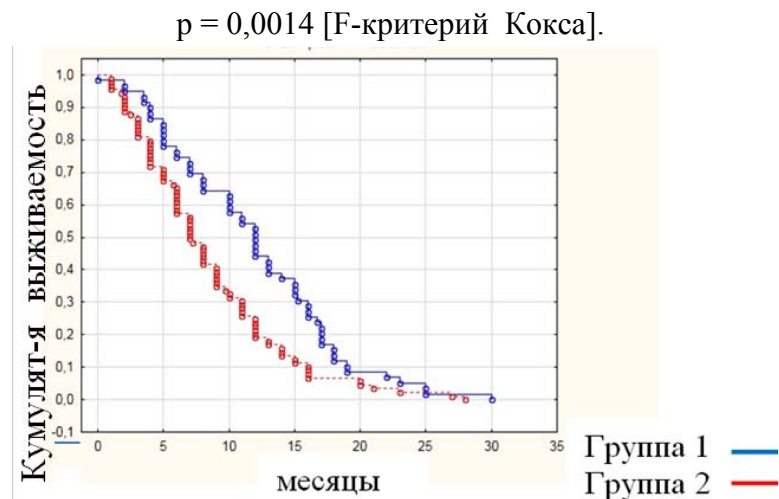
Рисунок 110.— Кривая Каплан – Мейера выживаемости в группе больных метастазами в зависимости от объема удаления опухоли

На территории постсоветского пространства в ведущих нейрохирургических клиниках сформировалось два подхода к удалению опухолей – «по перифокальной зоне» и «от центра». Работая в разных нейрохирургических клиниках, у диссертанта была возможность ознакомиться с разными методиками удаления опухолей. В большинстве клиник Москвы, Санкт Петербурга, Нижнего Новгорода в основном применяется методика удаления опухолей «от центра», преимущественно используя при этом аспиратор и биполярную коагуляцию. В Киевском институте нейрохирургии применяют преимущественно методику удаления внутримозговых опухолей «по перифокальной зоне», используя при этом монокоагуляцию, соединенную с трубкой аспиратора. Удаление опухолей по перифокальной зоне позволяет визуально постоянно контролировать границу: «опухоль – перифокальная зона - нормальное мозговое вещество, и даже при пальцевидном распространении опухоли в окружающую ткань в отдельных участках, позволяет более радикально удалять опухоль, снижая риск оставления незамеченными участки опухолей.

Автором работы опухоли были удалены преимущественно «по перифокальной зоне» у 110 больных с использованием аспиратора и биполярной коагуляции. При удалении больших размеров опухолей и их функционально

значимой зоне операция начиналась с удаления внутренней части опухоли для уменьшения ее объема и снижения травматизации, облегчения дальнейших манипуляций по перифокальной зоне. При удалении по перифокальной зоне на всей площади устанавливали ватники с ПВ, что снижает травматизацию неизменной ткани мозга и одновременно обеспечивает гемостаз.

Нами изучено влияние метода удаления опухолей на выживаемость в зависимости от гистологического характера опухолей. При первичных глиобластомах выявлено достоверное увеличение выживаемости при удалении по перифокальной зоне (рисунок 111).



Группа 1 – «по периферии», группа 2 – «от центра»

Рисунок 111. – Кривая Каплан – Мейера выживаемости в группе первичных глиобластом в зависимости от способа оперативного вмешательства

Группы сопоставимы по основным параметрам. По ряду параметров группы отличались, что могло оказать влияние на результаты исследования (таблица 31).

Таблица 31. – Выживаемость в группе первичных глиобластом в зависимости от тактики удаления

Сравниваемые параметры	Количество операций		p
	1 (n=59) Me (Q1;Q3) ¹	2 (n=89) Me (Q1;Q3) ¹	

Пол, [мужской/женский] ²	34/25	38/51	0,053; 0,1
Возраст, лет ³	40 (34;46)	42 (33;51)	0,3
Количество операций, одна/две/три и более ⁴	32/20/7	71/15/3	0,003
Объем операции, тотальное/субтотальное/частичное ⁴	30/25/4	28/54/7	0,058
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	24/35	1/88	0,000001; 0,000001
Лучевая терапия, есть/нет ²	39/20	20/69	0,0001; 0,0001
Химиотерапия, есть/нет ²	33/16	19/20	0,06; 0,12
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	15/34	7/32	0,13; 0,26
Комплексное лечение, есть/нет ²	25/34	16/73	0,001; 0,002
Общая продолжительность жизни, мес ⁵	12 (6; 16,75)	7(4; 12)	0,0014

Примечание: ¹Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ²Точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса; ³U-критерий Манна-Уитни; ⁴критерий χ^2 Пирсона. ⁵F-тест Кокса;

При вторичных глиобластомах также отмечено увеличение выживаемости при удалении опухолей по перифокальной зоне (рисунок 112, таблица 32).

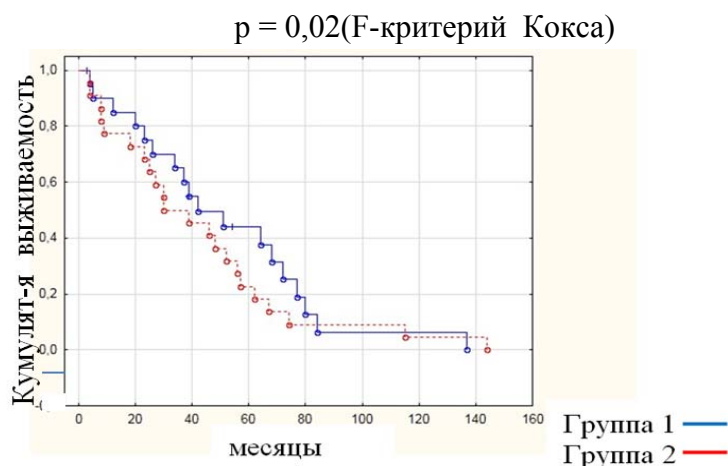


Рисунок 112. Кривая Каплан – Мейера выживаемости в группе вторичных глиобластом в зависимости от способа оперативного вмешательства. Группа 1 – «по периферии», группа 2 – «от центра».

Группы были сопоставимы по основным параметрам (таблица 32).

Таблица 32. – Выживаемость в группе вторичных глиобластом в зависимости от тактики удаления

Сравниваемые параметры	Количество операций		p
	1 (n=21) (Me Q1;Q3) ¹	2 (n=22) (Me Q1;Q3) ¹	
Пол, [мужской/женский] ²	10/11	12/10	0,44; 0,88
Возраст, лет ³	(54 47;60)	52 (43;58)	0,48
Объем операции, тотальное/субтотальное/частичное ²	8/11/1	10/11/0	0,54
Лучевая терапия, есть/нет ²	11/4	14/2	0,29; 0,58
Химиотерапия, есть/нет ²	13/3	7/8	0,06;0,1
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	8/8	6/9	0,42; 0,84
Комплексное лечение, есть/нет ²	10/11	9/13	0,44; 0,89
Общая продолжительность жизни, мес ⁵	39 (23; 68)	34,5(18; 57)	0,02

Примечание: ¹Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го процентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ²Точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса; ³U-критерий Манна-Уитни; ⁴критерий χ^2 Пирсона; ⁵F-тест Кокса.

В группе больных с астроцитомами Grade III не выявлено влияния на выживаемость от способа удаления опухолей (таблица 33).

Таблица 33. – Выживаемость в группе астроцитом со степенью анаплазии Grade III в зависимости от способа оперативного вмешательства p = 0,32 (F-критерий Кокса)

Группа	Количество пациентов, n	Медиана выживаемости, месяцы
1	20	39 (18; 68)
2	50	39, 5 (13,8; 70,5)
Всего	70	39 (16; 68)

Группа 1 – «по периферии», группа 2 – «от центра»

Достоверного увеличения МОВ у больных астроцитомами Grade I-II в зависимости от метода удаления также не выявлено (таблица 34).

Таблица 34. – Выживаемость в группе астроцитом со степенью анаплазии Grade I-II в зависимости от способа оперативного вмешательства

p = 0,32 (F-критерий Кокса)

Группа	Количество пациентов,	Медиана
--------	-----------------------	---------

	n	выживаемости, месяцы
1	10	90,5 (36; 131)
2	32	77 (17; 129)
Всего	42	85 (24; 131)

Группа 1 – «по периферии», группа 2 – «от центра»

Не было оперировано 19 больных с диагностированными по МРТ или КТ с контрастным усилением опухолями головного мозга. Из них выставлены противопоказания к операции в 10 случаях, в 8 случаях от оперативного вмешательства отказались больной или его родственники, в одном случае больной умер накануне запланированной операции. Катамнез известен у 15 больных. МОВ в этой группе составила 6 (2,75; 19,0) мес.

Одной больной оперативное вмешательство выполнено не оправдано по поводу лимфомы.

После удаления опухоли гистологически не удалось выявить опухоль у 6 больных. Из них 5 больных по данным вскрытия умерли от ОГМ, МОВ у них составила 57,5 [4,1; 129,0] мес.

При дополнительном пересмотре в двух независимых лабораториях гистологических препаратов 6 больных с установленным диагнозом опухолей Grade IV и с продолжительностью жизни превышающей 4 года, в 4 случаях диагноз был изменен на опухоль Grade III.

Использование микрохирургической техники при удалении ОГМ является обязательным и сохранение мозговых артериальных и венозных сосудов - важный этап удаления опухолей. Однако на практике не всегда используется операционный микроскоп, особенно при поверхностно расположенных опухолях. В нашей практике при удалении ОГМ во всех случаях (100 %) мы использовали операционный микроскоп. Это позволяет контролировать процесс удаления опухоли не одному, а двум хирургам. В случае небольшого повреждения крупных артериальных или венозных сосудов, применение увеличения не менее чем в 12 раз позволяет осуществлять пристеночную коагуляцию и сохранить кровоток в них.

Несмотря на то, что по результатам проводимых ранее исследований смерть больных с метастатическим поражением головного мозга чаще всего

наступает в результате прогрессирования основного опухолевого процесса (Улитин А.Ю. и соавт., 2010), по нашим данным не выявлено достоверной зависимости между МОВ и объемом удаления метастазов, что обусловлено небольшим количеством пациентов в группах. По данным аутопсии 11 [39,29%] больных умерли от основного заболевания.

По нашим данным, удаление первичных и вторичных опухолей Grade IV методом «по периферии» при проведении в послеоперационном периоде необходимого противоопухолевого лечения способствует увеличению МОВ больных. Достоверных отличий выживаемости при удалении опухолей Grade I-II и III «по периферии» или «от центра» не выявлено.

Следует заметить, что вопрос о методе удаления глиомы в каждом конкретном случае рассматривается нейрохирургом индивидуально и зависит от многих факторов: размер и локализация новообразования, визуализация его границ, особенности кровоснабжения и т.д.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости стремления не только к тотальному удалению ЗОГМ, поскольку это увеличивает ВП и МОВ при первичных, вторичных опухолях Grade IV, Grade III, Grade I-II, но и показывают эффективность реопераций, как факторов, повышающих МОВ больных глиомами.

При увеличении количества оперативных вмешательств ВП сокращается, но МОВ больных ЗОГМ увеличивается. Поэтому повторные оперативные вмешательства способствуют увеличению продолжительности жизни больных с опухолями.

Полученные нами результаты по выживаемости больных в зависимости от объема удаления и количества операций согласуются с результатами других исследователей, в которых отмечается, что увеличение количества оперативных вмешательств и тотальное удаление опухолей у больных глиобластомами увеличивает продолжительность жизни (Мартынов Б.В., 2012; Li Y.M., et al., 2015; Almeida J.P., et al., 2015; Chaichana L. et. al., 2013).

5.1.1 Роль тепловидения при удалении внутримозговых опухолей

В ходе нейрохирургических операций наиболее широко используются нейронавигационные системы. С 2011 г при выполнении оперативных вмешательств нами в 98% случаев применялась нейронавигация фирмы Медтроник StealsStationS7. Однако самая современная навигационная система интраоперационно представляет статические результаты дооперационного обследования больных. Поэтому метод интраоперационной нейронавигации не лишен ограничений, наиболее известное из которых – влияние феномена смещения мозговых структур («brain shift») вследствие изменения внутричерепного давления, возникающего уже после костно-пластической трепанации черепа, и вскрытия ТМО, а также после выведения ликвора и в результате удаления опухолей (Danilchenko A., 2011; Shamir R.R., 2012; Garlapati R.R., 2014).

В нашем исследовании мы применили несколько интраоперационных методов, повышающих точность топической диагностики ОГМ. С помощью интраоперационного тепловидения обследовано 32 пациента с опухолями головного мозга, из них 15 – женщины и 17 – мужчин. Средний возраст пациентов (по медиане) составил ~56.5 лет (женщины ~54 года, мужчины ~57.5 лет). Распределение больных по морфологии и степени анаплазии представлено в таблице 35.

Тепловизионное исследование мы начинали с кожных покровов после фиксации головы больного к скобе.

Таблица 35. – Распределение опухолей по морфологии и степени злокачественности

Гистология	Grade				Итого
	I-II	III	IV	Не оценивается по Grade	
Астроцитома	2	2	3		7
Глиобластома			19		19
Глиосаркома			1		1
Олигодендроглиома		1			1

Эпендимома			1		1
Метастаз				3	3
Итого	2	3	24	3	32

При повышенной васкуляризации опухоли уже на этом этапе исследования определялось локальное повышение температуры кожи в проекции опухоли в случаях повышенной васкуляризации опухолей. Пример соответствия тепловизионной картины и КТ представлен на рисунках 113 и 114.

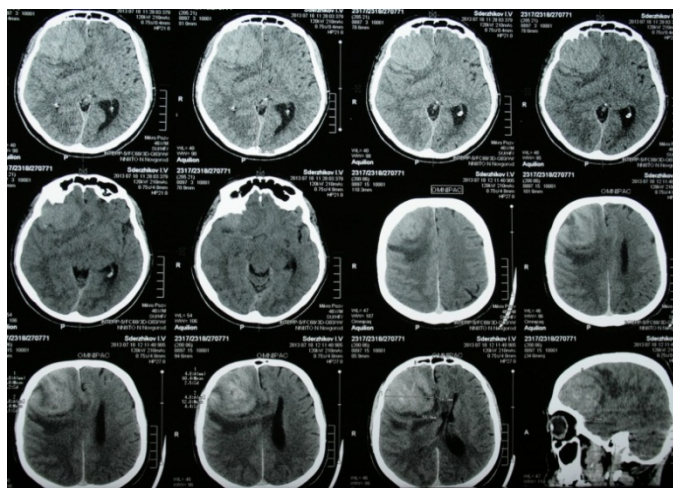


Рисунок 113.– КТ больного С. Опухоль правой лобной доли. КТ с контрастным усилением от 18.07.2013. В правой лобной доле определяется опухоль, интенсивно накапливающая контраст

При ТВ исследовании определяется повышение температуры тела кожи в проекции опухоли до 35°C, со снижением температуры к периферии до 34.4°C. После выполнения трепанации разрез ТМО сопряжен с риском повреждения не только артериальных сосудов коры, но и крупных вен. Это особенно важно при осуществлении доступов парасагиттально, особенно в теменной области, так как известно, что при удалении опухолей этой локализации в послеоперационном периоде возможно появление такого осложнения, как нарушение венозного оттока (Тиглиев ГС, 2001).

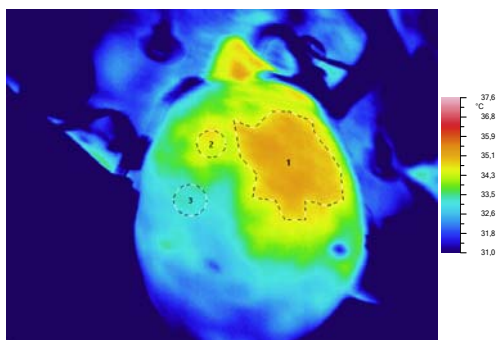
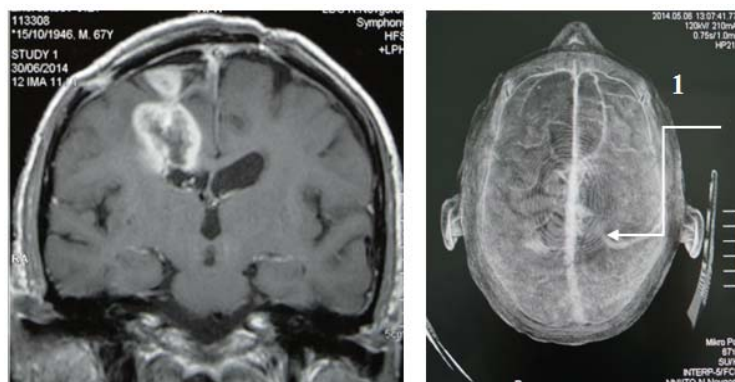


Рисунок 114. – Тепловизионная картина кожных покровов больного С. после фиксации головы

Нередко переходные вены плохо визуализируются через ТМО даже с помощью операционного микроскопа, что чаще всего бывает при утолщении и рубцовом перерождении ТМО, обнаруживаемых при повторных оперативных вмешательствах, после лучевой терапии. При первичных операциях визуализация вен ухудшается вследствие их сдавления и тесного прилегания к внутренней пластинке ТМО вследствие повышенного внутричерепного давления.

Для снижения риска повреждения вен при разрезах ТМО и усугубления нарушений венозной циркуляции в дооперационном периоде мы оценивали расположение вен на 3D реконструкциях КТ ангиографических изображений в предоперационном периоде у 52 больных, независимо от предполагаемого вида. Выполнение КТ ангиографии с последующей 3D реконструкцией изображений позволяет визуализировать крупные вены в зоне операции в дооперационном периоде. Однако при наличии выраженной внутричерепной гипертензии кровотоки в венах снижаются и некоторые из них могут не определяться на этих изображениях опухоли (рисунок 115 Б).

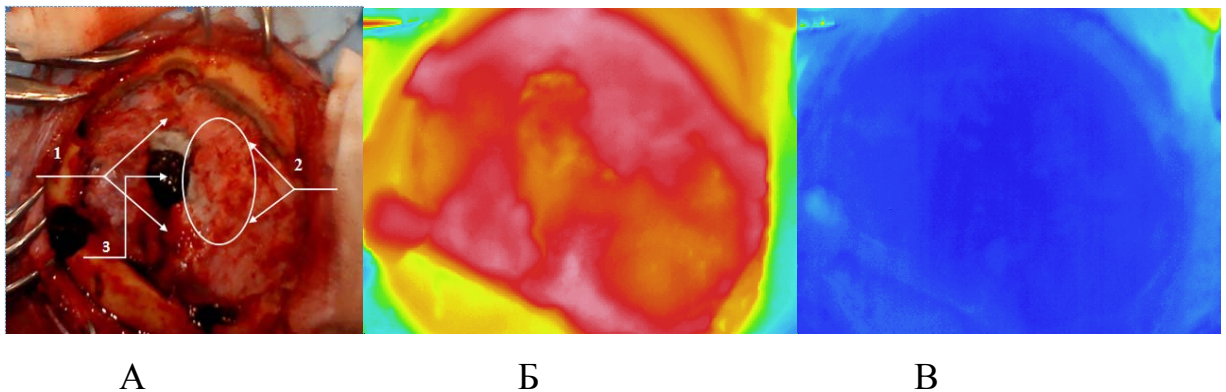


А

Б

Рисунок 115.– КТ больного Ж. Продолженный рост глиобластомы медиальных отделов теменной доли справа. КТ с контрастным усилением от 05.06.2014. А – фронтальная проекция; Б – 3D реконструкция КТ ангиографического обследования; 1 – отсутствует полное заполнение контрастом теменной вены в парасагиттальных области

После удаления костного лоскута интраоперационно с помощью только визуальной оценки ТМО четко определить локализацию субдурально расположенных вен, даже предполагая их расположение по дооперационным данным КТА, в большинстве случаев не удается (рисунок 116 А).



А

Б

В

Рисунок 116. – А – исходная тепловизионная картина ТМО больного Ж. 1 – сагиттальный синус; 2 – проекция расположения опухоли по данным навигации; 3 – гемостатическая губка над сагиттальным синусом. Определить расположение корковых вен при оценке ТМО невозможно. Б – стационарная тепловизионная картина ТМО. В – поверхность ТМО равномерно охлаждена до 24 С сразу после холодной пробы

При выполнении всех оперативных вмешательств по поводу ОГМ при оценке ТМО мы использовали тепловидение. Нативная (стационарная) тепловизионная картина в большинстве случаев не позволяет определить проекционное расположение сосудов на ТМО (рисунок 116 Б).

Для выявления субдурально расположенных сосудов мы использовали холодную пробу – орошение поверхности ТМО на протяжении 30 секунд охлажденным до 24-26С стерильным физиологическим раствором [Кравец и др., 2006] (рисунок 116 В).

Поскольку сосуды отличаются от окружающего мозгового вещества более высокой температурой, то после холодной пробы они первыми проявляются на

тепловизионной картине, что позволяет определить не только локализацию, но и извитость хода сосудов (рисунок 117).

В отличие от 3D реконструкции КТ ангиограмм, с помощью тепловидения субдурально выявлено два венозных сосуда, пересекающих опухоль. По нашим данным, уже на 5-12 секундах динамическое термовизирование открытого сегмента ТМО позволяет выявить субдурально расположенные вены. Вскрытие ТМО выполняли с учетом данных тепловидения и навигации. При разрезе ТМО мы стремились не вскрывать паратуморальные участки с расположенными под ТМО крупными венами, определенными с помощью тепловидения.

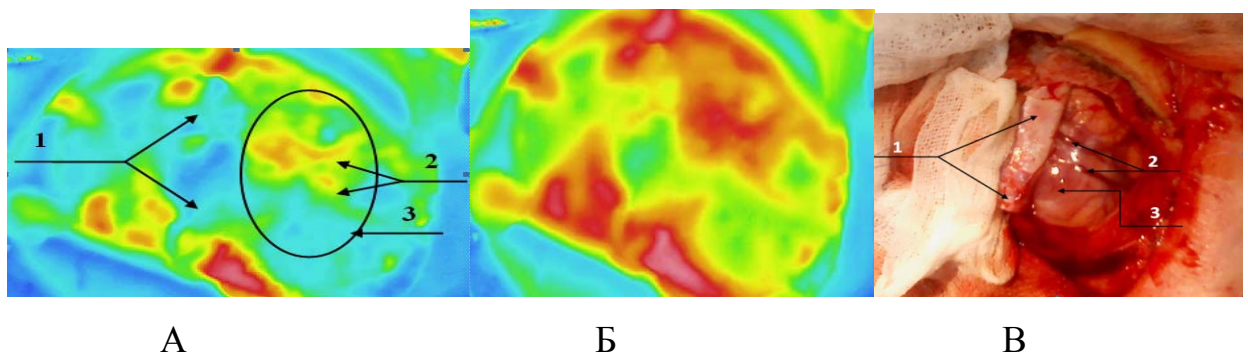


Рисунок 117.– А – 5 секунда после холодной пробы. 1- сагиттальный синус; 2 – зона повышения температуры – проекционное расположение субдуральных корковых вен; 3 – расположение опухоли, по данным навигации. Б – 20 секунда после холодной пробы. В - интраоперационное фото. Обозначения фото больного Ж. после вскрытия ТМО. 1 – сагиттальный синус под ТМО; 2 – корковые вены; 3 – опухоль

Адаптируясь к расположению вен, мы не всегда выполняли разрезы ТМО классически: линейные, полуовальные или крестообразные. При пересечении вен поверхности опухоли и при переходе их в дубликатуру ТМО разрезы ТМО на удалении от синуса выполняли вдоль вен с двух сторон, оставляя по обе стороны от сосуда полосы ТМО шириной до 2 мм для обеспечения возможности последующего герметичного ушивания оболочки. Таким образом, зная субдуральное расположение вен, разрез ТМО в этих участках проводили крайне осторожно. Ни в одном случае при использовании тепловидения не отмечено повреждения крупных переходных вен.

Таким образом, тепловизионная оценка ТМО с выполнением холодовой пробы позволяет снизить риск повреждения субдурально расположенных крупных корковых вен.

После вскрытия ТМО, с целью топической диагностики мы также применяли холодовую пробу. Распределение пациентов по минимальной глубине залегания опухоли относительно поверхности коры приведено на рисунке 119. Принцип определения минимальной глубины залегания опухоли схематично изображён на рисунке 120b. Из рисунка 118a видно, что наибольшее количество удаленных опухолей пришлось на глубины от 0 до 1 см.

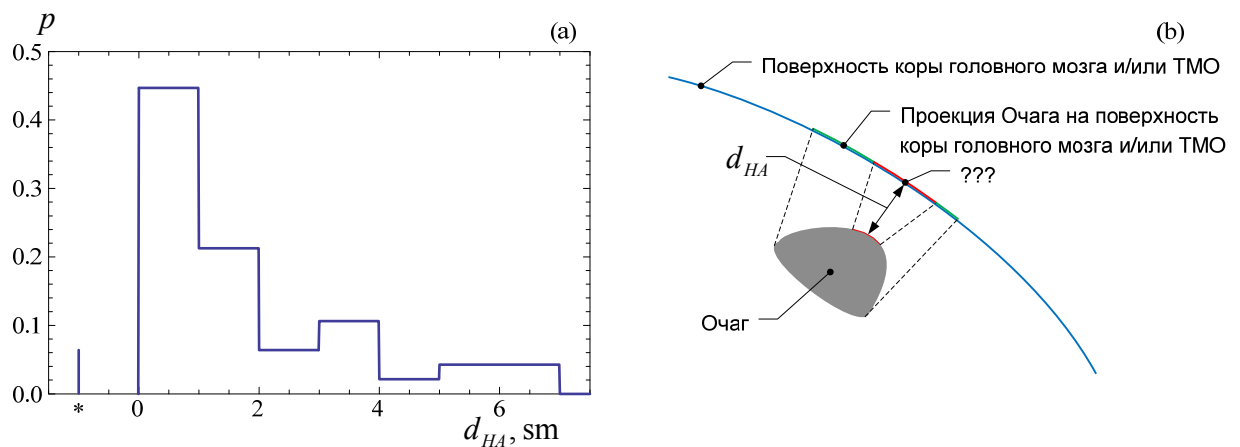


Рисунок 118 а. – распределение пациентов по параметру d – минимальная глубина залегания очага (* – прорастание ТМО опухолью); b – иллюстрация смысла параметра d (глубина)

Диаграмма распределения ХП по параметрам качества D и R приведена на рисунке 119, где D – степень смещения зоны, указанной тепловидением относительно истинной зоны проекции опухоли на ТМО, оцениваемом интраоперационно после удаления опухоли и определения ее границ и по данным послеоперационного КТ; R – степень заполнения истинной зоны проекции опухоли относительно зоны, указанной тепловидением.

$$p < 0,001$$

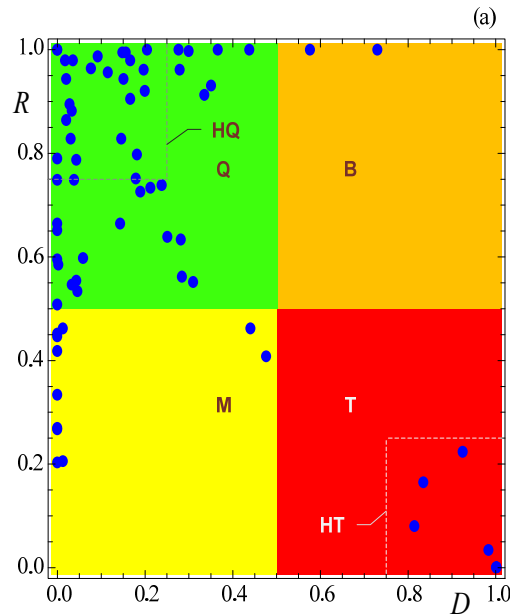


Рисунок 119.–Диаграммы: (а) – распределение ХП по параметрам качества D и R $p < 0,001$

При этом ХП распределились по зонам следующим образом: зона наилучшего совпадения данных тепловидения и реального расположения опухоли Q (максимальные значения D и R) ~71.8%, M (50% совпадений по параметру D) ~15.5%, B (50% совпадения по параметру R ~2.8% и T (ошибка – неполное совпадение тепловидения с реальным расположением опухоли) ~9.9%.

В свою очередь, были дополнительно оценены две подзоны внутри зон Q и T, характеризующие, соответственно, HQ – максимальное совпадение и HT – полное несовпадение контура проекции опухоли на ТМО, по данным тепловидения, интраоперационного определения локализации опухоли и послеоперационного КТ. По подзонам ХП распределились следующим образом: HQ ~35.2% и HT ~9.9%.

Клинический пример 16. Б-я Ф. Диагноз: Глиобластома (Gr. IV) медиальных отделов правой теменно-височной области.

Жалобы при поступлении на слабость в левых конечностях, головная боль.

Анамнез: болеет полгода, когда отметила нарастание головной боли, на протяжении двух недель отметила появление слабости в конечностях слева. Неврологом направлена на МРТ. После выявления опухоли – на консультацию к нейрохирургу.

При поступлении в неврологическом статусе: ориентирована, левосторонний гемипарез, более выражен в руке, до 3 баллов, анизорефлексия S>D, координаторные нарушения. Состояние по ШК – 60 баллов.

Инструментальные данные обследования: МРТ с контрастным усилением от 03.06.15 – внутримозговая кистозная опухоль в задне-лобно-теменной области справа, размером 35,4x46,2x52,5 мм (рисунок 120). Консультация окулиста от 16.06.15 на глазном дне застоя не выявлено. Общеклинические анализы в пределах нормы.

После трепанации ТМО напряжена, не передает пульсации мозга; на исходной термокарте ТМО – признаки полнокровия. ИК-исследование с ТМО – и после холодной пробы (рисунок 121).



Рисунок 120. – Внутримозговая кистозная опухоль в задне-лобно-теменной области справа

Для решения о проекции опухоли на поверхность открытого сегмента ТМО значимы тепловизионные кадры от 5 до 15 с от момента ХП.

По данным тепловидения, дооперационных результатов МРТ, интраоперационной оценки границ после удаления опухоли и послеоперационной КТ моделировали карты проекции опухоли на ТМО – композитные кадры (рисунок 122).

Данный пример демонстрирует возможности тепловидения в интраоперационной топической диагностике опухолей.

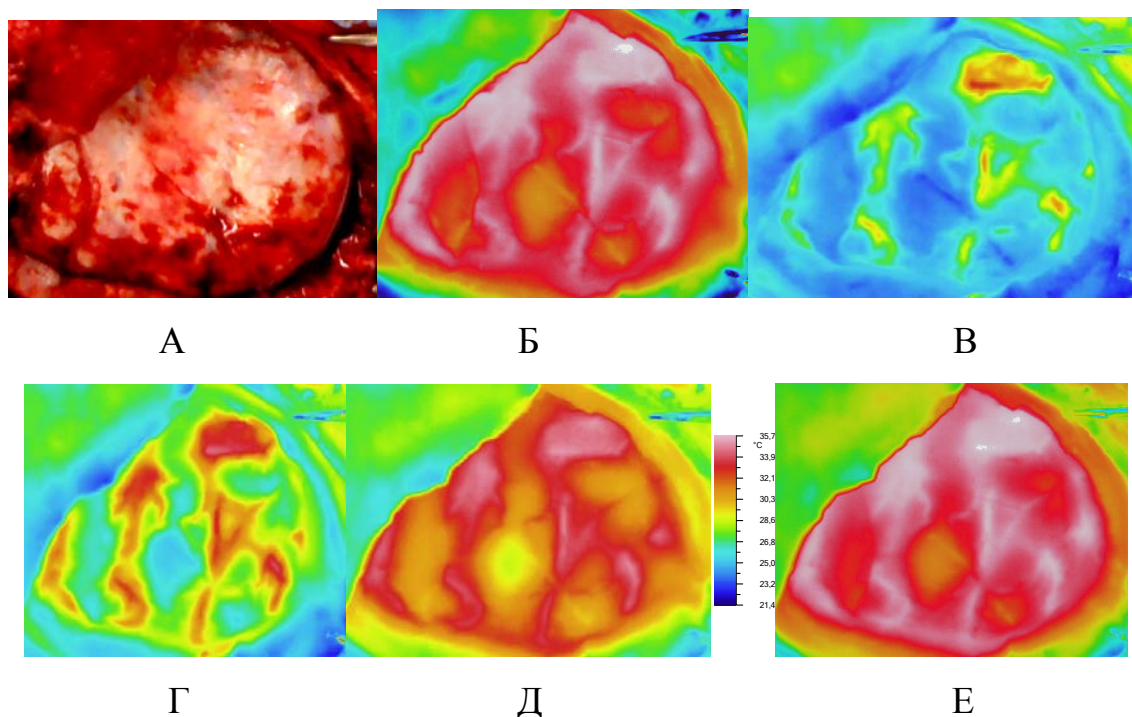


Рисунок 121. – А – ТМО (Рисунок графия), тепловизионные кадры: Б – до ХП, В – Е на 5, 15, 90 и 180 с после ХП

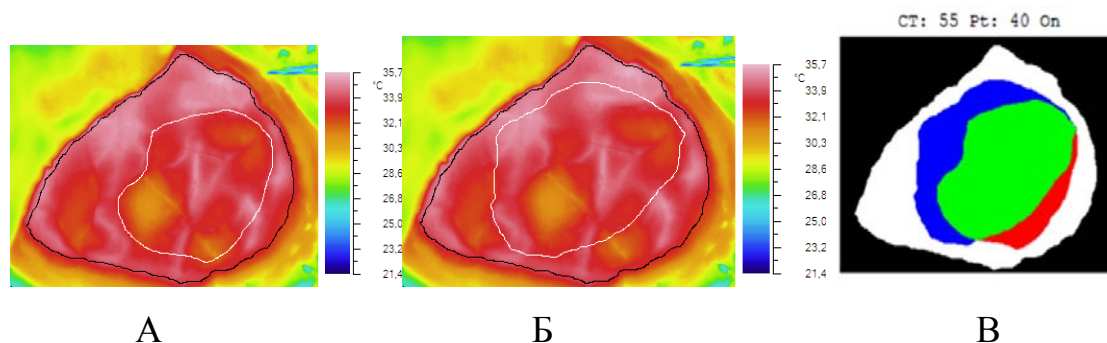


Рисунок 122.– Результат термовизирования ТМО с ХП больной Ф. А – контур проекции опухоли на ТМО по данным тепловидения. Б – контур проекции по данным навигации, дооперационного МРТ и послеоперационного КТ. В – композитный кадр. Зона перекрытия контуров – зеленого цвета, ложноположительная ТВ оценка – красного цвета, ложноотрицательная – синего цвета

Результаты наших исследований свидетельствуют, что тепловидение с высокой степенью вероятности обеспечивает интраоперационную топическую диагностику опухолей, и результат этот, является детерминированным.

5.1.2 Удаление множественных опухолей головного мозга

Общим недостатком интраоперационных технологий, выявляющих внутримозговые образования, является то, что во время операции, применяя ту или иную диагностическую методику, оперирующий хирург видит искомый очаг

поражения на экране монитора, выявляемый с помощью датчика ультразвука, указки навигации или какого-либо другого диагностического датчика. Определяется глубина, и направление, в котором необходимо вести поиск визуализируемой опухоли, после чего датчик убирается и хирург, руководствуясь по определенной во время исследования глубине и примерном направлении доступа, осуществляет в дальнейшем поиск цели в глубине ткани мозга «по памяти». На данном этапе важную роль играет «человеческий фактор», то есть способность оперирующего хирурга к пространственному мышлению. Однако при мелких очагах и их глубинном расположении, и тем более при смещении мозговых структур и, соответственно, самих опухолей, во время доступа нередко происходит отклонение от направления поиска опухоли, поскольку конечная цель постоянно не визуализирована, и путь к ней в реальном режиме времени не определен. Это опасно при расположении опухолей рядом с функционально и жизненно важными структурами, что требует постоянного использования диагностических датчиков во время осуществления доступа.

Кроме того, ошибкам в определении границ патологического очага с помощью ультразвукового исследования способствует изоденсная мозгу плотность опухолей, либо их участков, характер перифокального отека (Deng Z. et al., 2010). К ограничениям также относится расположение опухолей в функционально значимой зоне, например, рядом с подкорковыми ядрами, или расположение опухолей за пределами окна костной трепанации, когда технически сложно направить ультразвуковой датчик на опухоль. При наличии множественных опухолей, после удаления хотя бы одной из них уже происходит смещение мозга и, соответственно, остальных внутримозговых опухолевых узлов, что делает неэффективным дальнейшее применение навигационной установки для точного определения их расположения.

Нами в 16 случаях, при множественных опухолях, когда невозможно было использовать радиохирургическое лечение, и целесообразно было выполнить их удаление, для интраоперационного определения расположения всех внутримозговых новообразований головного мозга были использованы «путевые

метки». В этой группе у 7 больных были диагностированы опухоли со степенью анаплазии Grade IV, у одного – Grade III с мультифокальным ростом, у 8 больных – множественное метастатическое поражение головного мозга. У 5 больных было выявлено 2 опухоли, по одному больному было выявлено с 3, 4, 5 опухолевыми узлами.

У 5 больных с опухолями Grade I-II, когда интраоперационно сложно определить границу опухоли, также были использованы «путевые метки». Данный метод применялся также при расположении опухолей глубинно в теменных областях (6 случаев).

Удаление множественных опухолей с применением «путевых меток» осуществляем следующим образом. После получения результатов МРТ и КТ-ангио с помощью навигационной системы в режиме стереотаксической биопсии до операции планируются минимально травматичные для окружающих мозговых структур доступы к каждому патологическому очагу. После фиксации головы в максимально удобном положении для удаления всех очагов во время одной операции, с помощью навигационной системы в режиме биопсии определяются точки доступа к опухолям. Затем в точках доступов, определенных с помощью навигации над каждым новообразованием, поочередно накладываются фрезевые отверстия, вскрывается твердая мозговая оболочка. После введения биопсийной иглы в направитель, непосредственно перед введением биопсийной иглы в ткань мозга, на ее конец одевается «путевая метка», представляющая собой легко снимаемый с биопсийной иглы конической формы наконечник, к которому фиксирована гладкая нить темного цвета (рисунок 123).

Установка биопсийной иглы в точку цели осуществляется с учетом ее удлинения на размер наконечника (3-4 мм). После достижения точки цели биопсийная игла извлекается, наконечник «путевой метки» остается фиксированным в тканях, за счет его конической формы, а прикрепленная к нему нить остается выведенной через ткань мозга, по пути введения биопсийной иглы на поверхность коры головного мозга.



Рисунок 123.— Биопсийная игла в направителе с установленной на ее кончик «путевой меткой» в виде наконечника и фиксированной к нему нитью 4/0 темного цвета перед введением в глубинный метастаз. 1 – биопсийная игла; 2 – направитель; 3 – наконечник; 4 – нить темного цвета

Опухоль на данном этапе не удаляется, дабы избежать смещения головного мозга и других опухолевых узлов. Кожная рана над фрезевым отверстием не зашивается, а тампонируется салфеткой с 3% перекисью водорода. «Путевые метки» устанавливаются над теми опухолями, которые сложно будет обнаружить в результате смещения мозговых структур. Затем поэтапно, согласно плана очередности удаления опухолевых узлов, выполняли хирургические доступы, включающие трепанацию черепа с помощью краниотома из наложенного фрезевого отверстия, до вскрытия твердой мозговой оболочки из разреза, выполненного при установке «путевой метки», и осуществляли внутримозговой доступ по ходу нити, установленной ранее. Не зависимо от смещения мозговых структур доступ всегда осуществляется только по ходу установленной ранее нити темного цвета от «путевой метки» (рисунок 124). При доступе путем разведения ткани мозга с помощью ретракторов по нити от «путевой метки», после достижения наконечника и, соответственно, опухоли ретракторы, разводящие мозговую рану фиксируются (рисунок 124), «путевая метка» извлекается и выполняется удаление опухоли.

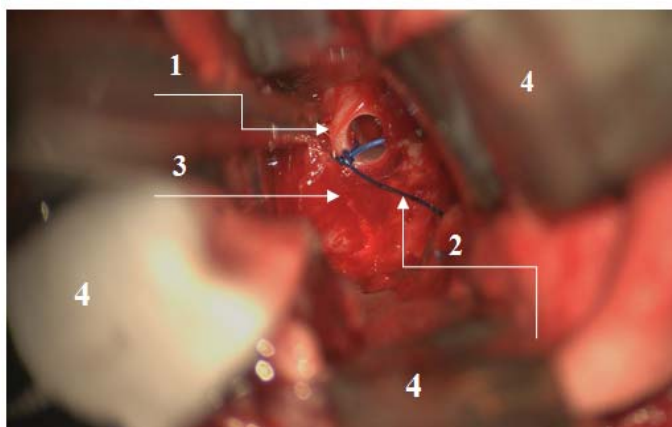


Рисунок 124.– Этап удаления опухоли с помощью «путевой метки». Вид в микроскоп при увеличении 9 X. Обозначения: 1– наконечник «путевой метки»; 2 – фиксированная к наконечнику темная нить; 3 – опухоль в которую была установлена «путевая метка»; 4 – металлические шпатели

Во всех случаях все опухолевые очаги интраоперационно были обнаружены без проблем. Тотально удалено 4 глиальные опухоли, в 3 случаях, при расположении опухолей в функционально значимой зоне, удаление выполнено субтотально.

Клинический пример 16. Больная М., 58 лет, находилась в ФГБУ ПФМИЦ с 24.03.15 по 6.04.15 с диагнозом: множественные метастазы головного мозга с наличием очагов в обеих теменных областях, медиальных отделах височно-теменной области справа, в полушариях мозжечка. Из анамнеза известно, что 25.02.2010 г выполнена мастэктомия справа по поводу рака, после чего прошла 6 курсов химиотерапии. В 2012 – лобэктомия справа. В 2013 г метастазы в другое легкое. Проводилась ПХТ. С 2013 г – стабилизация процесса на фоне противоопухолевой терапии. Ухудшение состояния с 10.03.15, когда появилась головная боль, рвота слабость в левой руке. После МРТ без к/у (не удалось ввести контраст в связи с тромбированием периферических вен после химиотерапии) выявлены два метастатических очага в теменных областях, один очаг в медиальных отделах височно-теменной области справа, и два метастаза в обоих полушариях мозжечка, перитуморальный отек вокруг супратенториальных очагов. Неврологически: ШК 70 баллов, ECOG 3. Монопарез в левой руке до 3 баллов, анизорефлексия S>D, грубые координаторные нарушения. На глазном дне застой I степени. С целью уточнения локализации очагов и интраоперационного использования навигационной системы 24.03.15 выполнена КТ ангио (рисунок 125).

Учитывая наличие внутричерепной гипертензии, риск окклюзии на уровне ЗЧЯ, в связи с наличием опухолей в обоих полушариях мозжечка, радиохирургическое лечение больной было не показано. С учетом стабилизации процесса по основному заболеванию, больная госпитализирована в отделение нейрохирургии для оперативного лечения.

В связи с наличием внутричерепной гипертензии принято решение об удалении вначале опухолей полушарий мозжечка, для исключения риска окклюзии, затем супратенториальных очагов. Поскольку опухоли в теменных областях располагались конвекситально, то их интраоперационное определение не должно представлять сложностей даже после смещения мозга после ликворреи на фоне удаления метастазов в полушариях мозжечка.

Однако очаг в медиальных отделах височно-теменной области после смещения мозга и, соответственно, опухоли, выявить с помощью навигации было бы невозможно. Поэтому интраоперационно 25.03.2015, после фиксации головы больной в скобе Мейфилда к операционному столу наложено фрезевое отверстие в височно-теменной области. Выявлено, что мозг плотно прилежит к внутренней пластинке ТМО.

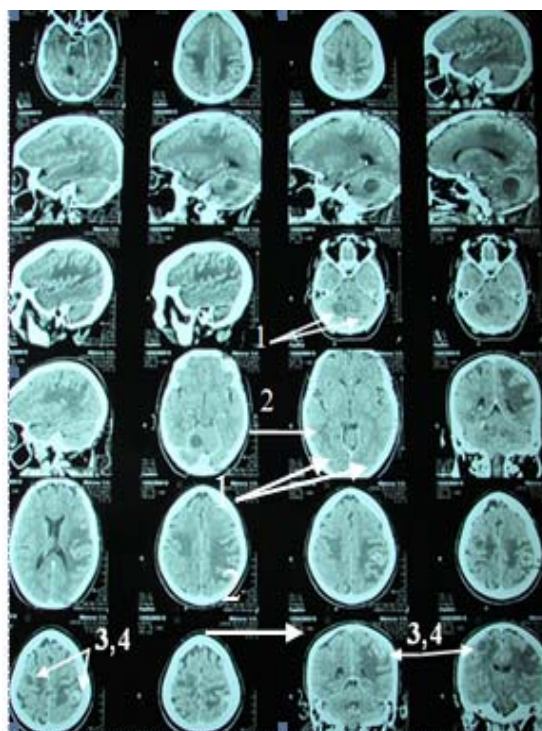


Рисунок 125. – КТА больной от 24.03.15. Множественные метастазы в головной мозг. IV желудочек сдавлен. 1– две кистозные опухоли в обоих полушариях мозжечка; 2– кистозная опухоль в медиальных отделах теменно-височной области справа; 3,4 – кистозная опухоль в правой теменной области и солидная опухоль в левой теменной области конвекситально

С помощью нейронавигации в режиме стереотаксической биопсии в глубокий очаг в височно-теменной области справа установлена «путевая метка» (рисунок 126 А).

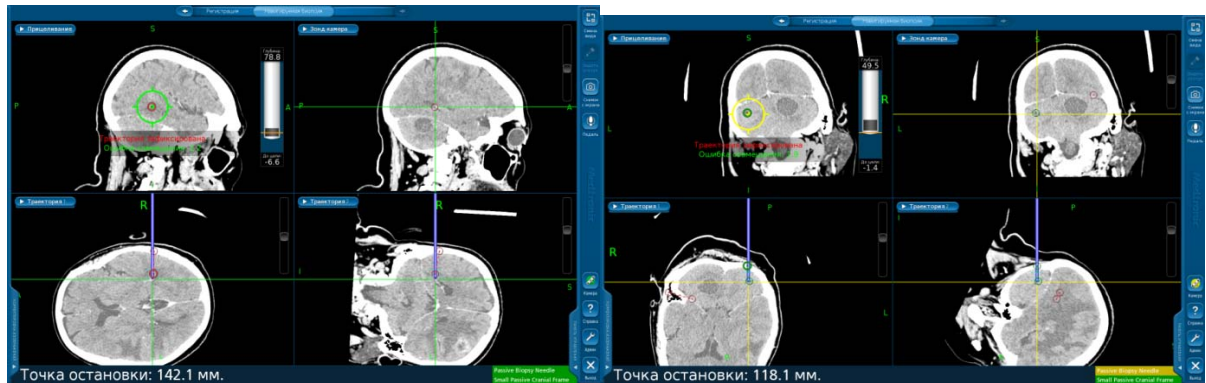


Рисунок 126. – Установка наконечника «путевой метки» А – в метастаз в медиальных отделах височно-теменной области справа; Б – в мелкий метастаз в левом полушарии мозжечка

Затем кожная рана тампонируется перекисью водорода, стол повернут налево, и после выполнения резекционной трепанации в мелкий очаг, диаметром 4 мм левой гемисферы мозжечка также установлена путевая метка (рисунок 126 Б).

Удалены метастазы в левом и правом полушариях мозжечка, что сопровождалось истечением ликвора и, естественно, смещением супратенториальных мозговых структур и опухолей. Рана была ушита, стол повернут вправо. При вскрытии ТМО реляпс мозга составил 0,5 см. По нити от «путевой метки» осуществлен доступ к медиально расположенной опухоли в височно-теменной области справа, опухоль была легко обнаружена и удалена. Затем, после верификации субкортикально расположенных очагов в теменных областях с помощью тепловидения и навигации последние также удалены. Поэтапно была выполнена ФДТ лож опухолей. Гистология от 211 № 435-442 – метастаз рака молочной железы. Исходная неврологическая симптоматика регрессировала. При выписке состояние по ШК 90, ECOG - 1балл. По данным послеоперационной КТ и МРТ через 1 месяц накопления контраста не выявлено (рисунок 127).

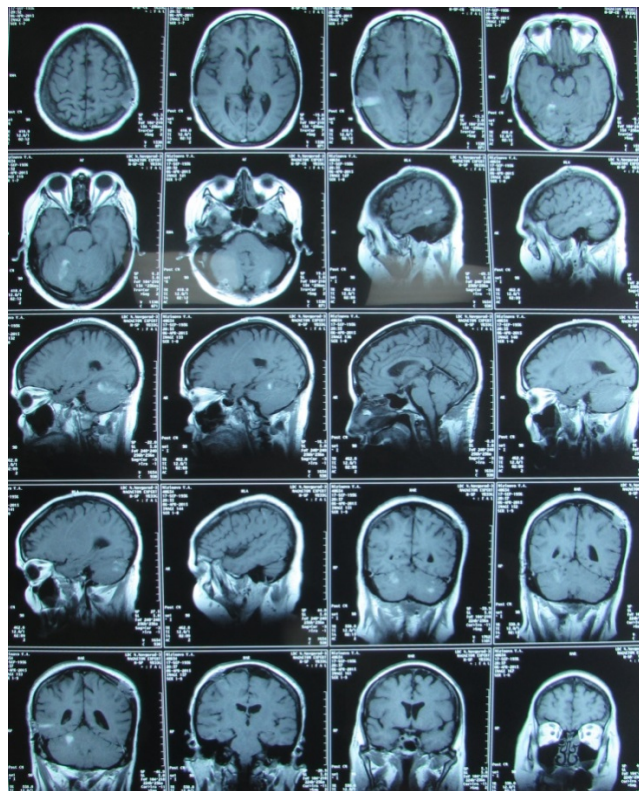


Рисунок 127.– МРТ больной М с контрастным усилением от 6.04.2015. Состояние после удаления множественных метастазов суб- и супратенториальной локализации. Накопления контраста не выявлено, перитуморальный отек регрессировал

При глиомах низкой степени анаплазии, плохо отличающихся от окружающего мозгового вещества и распространяющихся до подкорковых узлов, «путевые метки» устанавливали на границе опухоли с подкорковыми структурами и при необходимости в других, сложных для удаления участках. По мере удаления основной массы опухоли происходит постепенное смещение мозговых структур. При достижении в процессе удаления опухоли наконечника «путевой метки», установленной в начале операции медиально и оценке ее места расположения с помощью навигации, смещение, по нашим данным, может достигать 2 см (рисунки 128;129).

В таких случаях по мере удаления основной массы опухоли, при наличии выраженного объемного воздействия происходит постепенный возврат мозговых структур в нормальное положение.

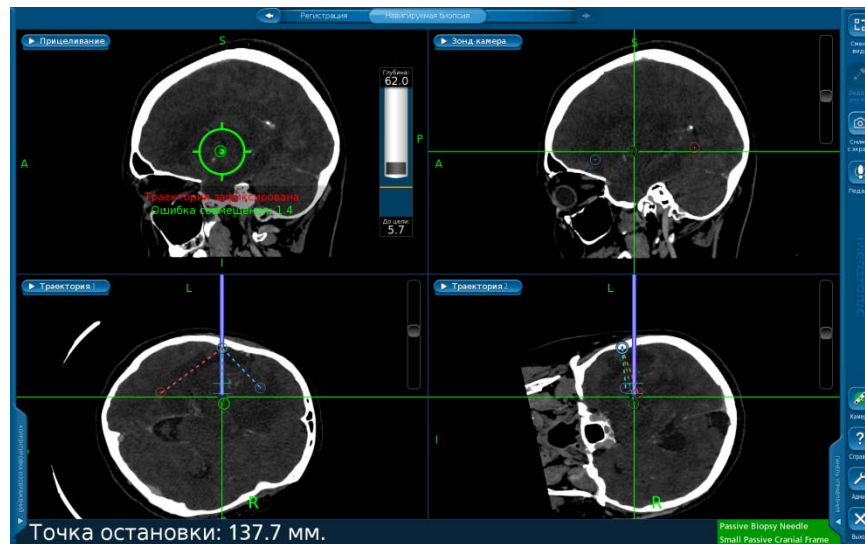


Рисунок 128.— Установка «путевой метки» в начале операции на границе опухоли низкой степени анаплазии и подкорковых узлов медиально, в области лба и теменно-затылочной области слева. Смещение срединных структур по 16 мм

При глиомах низкой степени анаплазии и отсутствии визуально определяемой разницы между опухолью и подкорковыми узлами использование смещаемой одновременно с мозговыми структурами «путевой метки» позволяет без дополнительного повреждения окружающих мозговых структур удалять внутримозговые новообразования, снижая риск повреждения важной в функциональном плане перитуморальной области.

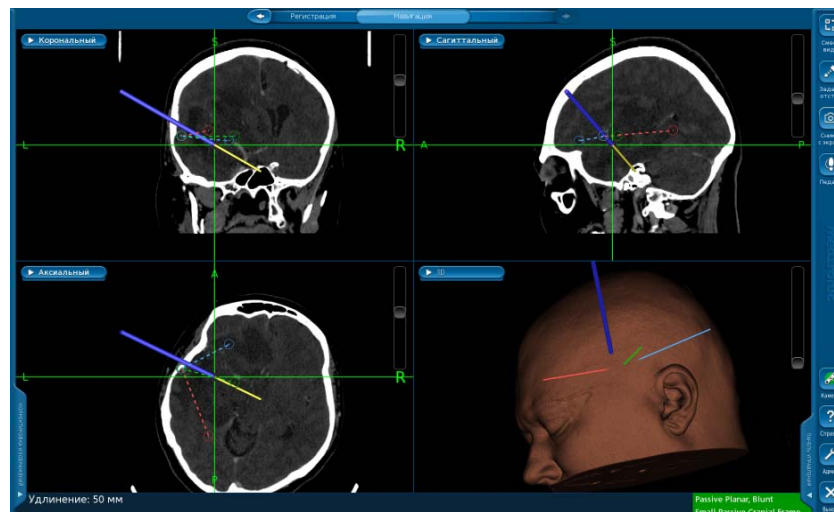


Рисунок 129. Расположение наконечника «путевой метки» после удаления наружных отделов опухоли по сравнению с дооперационным ее положением, по данным нейронавигации. 1— реальное расположение наконечника «путевой метки», на границе опухоли и подкорковых структур при его выявлении во время операции, после удаления наружных отделов опухоли; 2 — расположение «путевой метки», установленной на границе опухоли подкорковых структур до начала удаления опухоли

Понятно, что по всей границе «опухоль-мозг» установить путевые метки невозможно. Однако, установка нескольких меток в местах с трудно определяемой границей позволяет интраоперационно во время остановиться и избежать повреждения подкорковых структур.

Применение данной методики позволяет хирургу, независимо от возникающего смещения мозговых структур, осуществить доступ ко всем патологическим очагам по пути, указанном нитью «путевой метки». При выполнении операций с помощью данной методики никаких осложнений или ошибок при установке «путевой метки» не было. По данной методике получено положительное решение на заявку № 2015138300 от 08.09.2015 «Способ диагностики новообразований головного мозга».

Учитывая существующие ограничения обычных методов нейронавигации, предложенные путевые метки могут быть полезными при удалении глиом с плохо определяемыми границами и при множественных опухолях. Мы считаем, что этот простой метод легко доступен и преодолевает ограничения нейронавигации, обусловленные интраоперационным смещением головного мозга и опухолей.

5.1.3 Профилактика образования оболочечно-мозговых рубцов

Серьезную проблему при выполнении повторных оперативных вмешательств представляет образование оболочечно-мозговых рубцов в зоне предыдущей операции. По нашим данным, 137 пациентов – 34,24% от всех обследованных нами больных были реоперированы по поводу продолженного роста опухолей. Из них дважды оперировано 96 (70,07%) пациентов, трижды оперировано 30 (21,91%) больных. Четыре раза и более оперировано 11 (8,02%) больных. Практически во всех случаях выполнения повторных операций отмечались разной степени выраженности оболочечно-мозговые рубцы (рисунок 130 А).

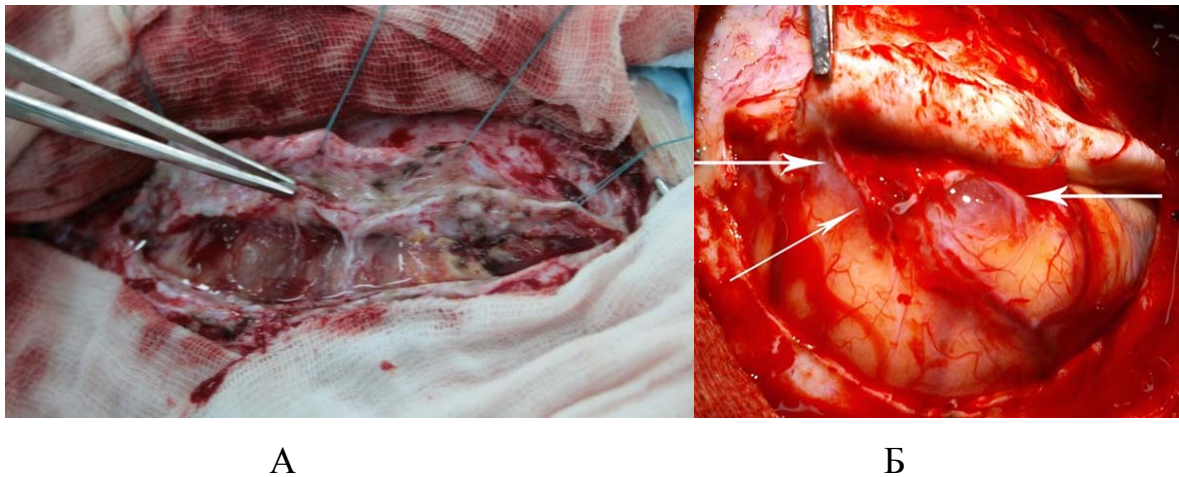


Рисунок 130. – Примеры оболочечно-мозговых рубцов, выявляемых при реоперациях по поводу продолженного роста опухолей. 1 – оболочечно-мозговые рубцы; 2 – ТМО

В связи с этим оперативные вмешательства нередко связаны с необходимостью выполнения менингиомиелолиза для обеспечения адекватного доступа к опухоли. Это сопровождается дополнительной травмой коры головного мозга, повышением риска нарастания неврологической симптоматики, увеличением продолжительности операции, что особенно важно при расположении опухоли в функционально значимой зоне. Поиск путей решения этой проблемы привел нас к интраоперационному использованию субдурально имплантируемой искусственной мембраны, разграничивающей кору головного мозга и ТМО. Нами, после удаления опухолей субдурально установлена мембрана 25 больным ЗОГМ.

С целью исследования адгезивных свойств искусственных ТМО в условиях *invitro* мы исследовали рост клеточных культур фибробластов на гладкой и шероховатой поверхностях стерильных образцов полимерного эндо протеза, производимого в Н. Новгороде «Реперен-4» IPOM 100мм (А) ТУ 9398-014-47530892-2009, партия № 5-03-13, срок годности от 03.2013 до 03.2018; и искусственной ТМО- «Neuro-Patch» производства B. Braun; 6X8 см, REF 1064029, lot 213085, 2018-02.

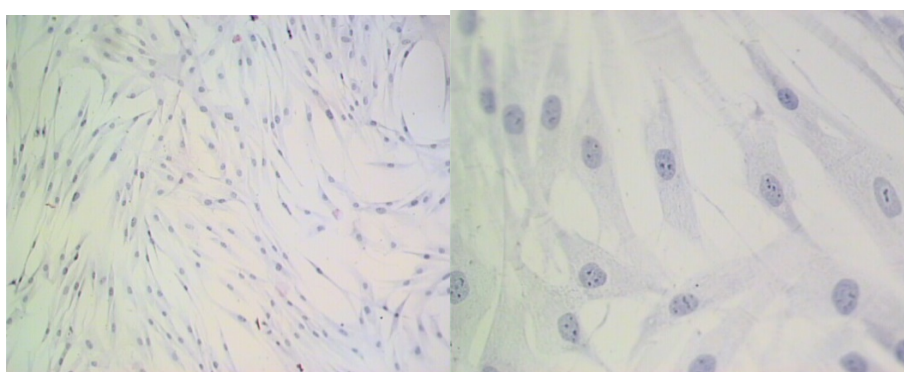
Реперен разработан Нижегородской фирмой. Это пространственно-сшитый полимер, для синтеза которого используются олигомеры метакрилового ряда.

Культивирование и визуализация состояния клеточных культур фибробластов на покрытии «Реперен 4» (гладкая и шероховатая поверхность) проводили в течение 96 часов. Покрытие представляет собой прозрачную пленку,

разделенную тремя радиальными полосами на 6 сегментов, одна из поверхностей гладкая, другая шероховатая.

В чашках без образца (контрольная культура) субконфлюэнтный монослой, равномерный, сформированный клетками типичной формы преимущественно веретеновидной, четко очерченными, с плотными ядрами, выраженными отростками.

При исследовании образцов «Реперен-4» с гладкой поверхностью с культурой клеток фибробластов через 48 часов после посева клеток с помощью окуляра 10х и объективов 4х, 10х, 20х в исследованных препаратах выявляются крупные отростчатые вытянутые клетки с хорошо различимыми базофильными ядрами и ядрышками, слабо базофильной протоплазмой. Клетки расположены между собой довольно близко, либо тесно сопряжены друг с другом, образуя «завихрения» (рисунок 131 А, Б).



А

Б

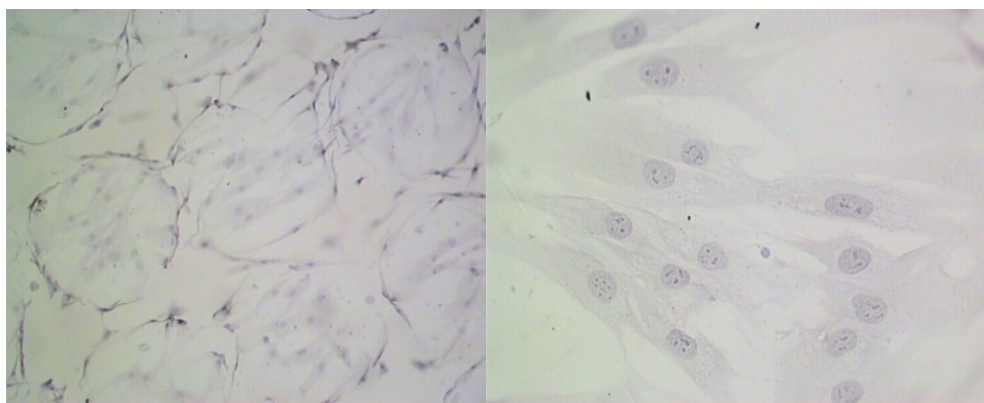
Рисунок 131.– Фибробласты через 48 часов культивирования на гладкой поверхности материала «Реперен 4». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 36.

Таблица 36.– Количество клеток в 10 полях зрения на гладкой поверхности материала «Реперен 4»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	57	67	72	63	62	61	71	59	62	60	63,4

При исследовании образцов «Реперен-4» с шероховатой поверхностью в исследованных препаратах количество фибробластов меньше, чем в образце №1, хотя сами клетки также довольно крупные, несколько вытянутые с круглым или овальным базофильным ядром, с хорошо различимыми ядрышками, слабо базофильной протоплазмой, располагаются мелкими группами в специальных лунках. В основном клетки располагаются обособленно, однако имеются участки более тесного их расположения (рисунок 132).



А

Б

Рисунок 132.— Фибробласты через 48 часов культивирования на шероховатой поверхности материала «Реперен 4». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б – ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 37.

Таблица 37. – Количество клеток в 10 полях зрения на шероховатой поверхности материала «Реперен 4»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	21	38	29	31	32	24	32	41	34	33	31,5

При исследовании образцов покрытие «Neuro-Patch» с культурой клеток фибробластов в исследованных препаратах количество клеток меньше, чем в образцах №1 и №2. Сами клетки мелкие, вытянутые, отростчатые с хромофильными ядрами и слабо базофильной протоплазмой. Клетки лежат

разрозненно, в отдельных случаях образуют мелкие скопления. Поверхность подложки неровная (рисунок 133).

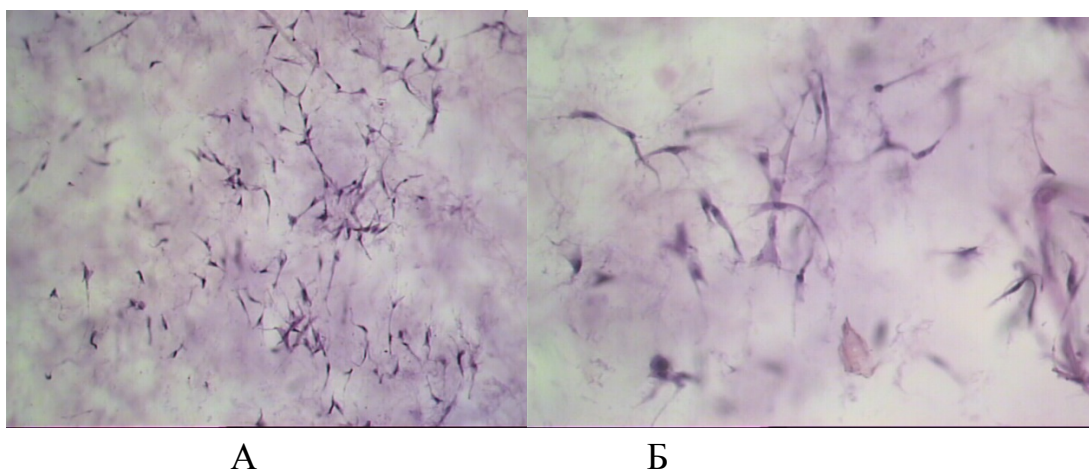


Рис. 133. – Фибробласты через 48 часов культивирования на покрытии «Neuro-Patch». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 38.

Таблица 38. – Количество клеток в 10 полях зрения на поверхности материала «Neuro-Patch»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	22	28	16	15	25	18	21	18	17	14	19,4

Различия по количеству клеток на поверхности материалов представлены на рисунке 134.

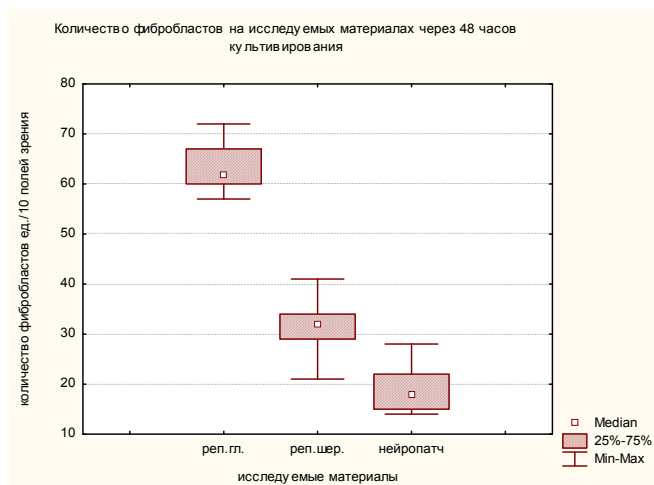


Рисунок 134. – Количество фибробластов через 48 часов наблюдения

Различия между группами статистически значимы:

$H_{kw}=24,49$; $p<0,0001$. $\chi^2=20,35$; $p<0,0001$

Исследование через 72 часа после посева клеток.

При исследовании образцов «Реперен-4» с гладкой поверхностью с культурой клеток фибробластов в исследованных препаратах определяются крупные вытянутые отростчатые клетки с крупным овальным или округлым базофильным ядром, занимающим центральную часть клетки с хорошо различимыми ядрышками, слабо базофильной протоплазмой. Клетки тесно сопряжены друг с другом, образуют «завихрения» (рисунок 135).

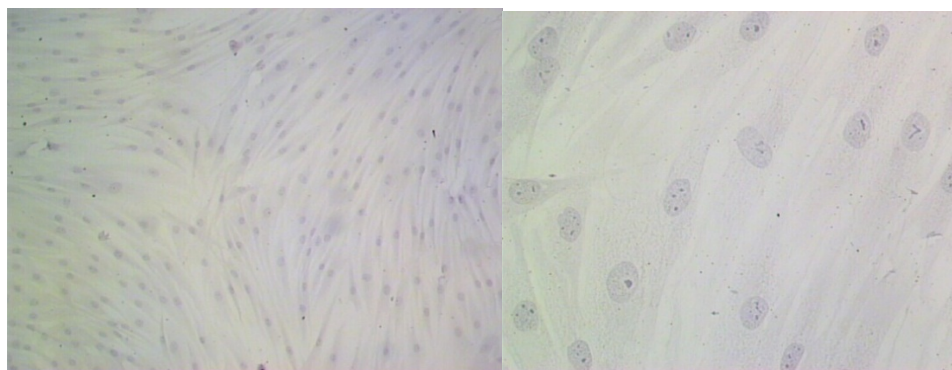


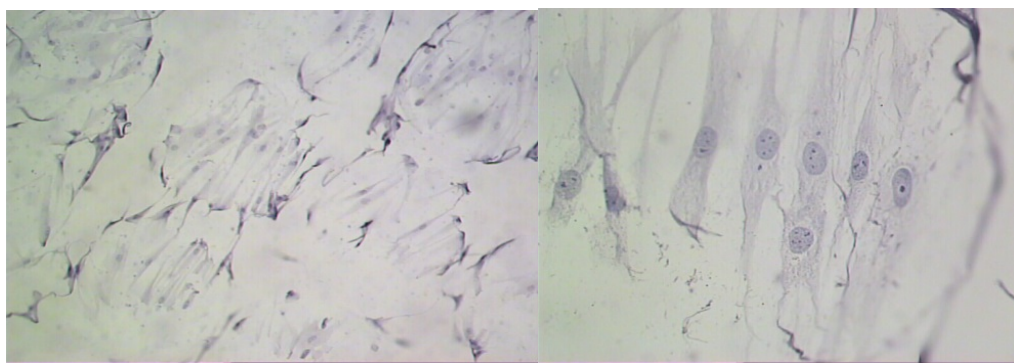
Рисунок 135. – Фибробласты через 72 часа культивирования на гладкой поверхности материала «Реперен 4». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 39.

Таблица 39. – Количество клеток в 10 полях зрения на материале «Реперен 4»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее Значение
Число клеток	6	84	87	90	82	80	81	83	79	86	82

При исследовании образцов «Реперен-4» с шероховатой поверхностью с культурой клеток фибробластов в исследованных препаратах имеются довольно крупные вытянутые клетки со слабо базофильной протоплазмой, крупным или овальным базофильным ядром с хорошо различимыми ядрышками. По краю лунки располагаются более мелкие клетки. Клетки в пределах лунки расположены довольно близко друг к другу (рисунок 136).



А

Б

Рисунок 136.– Фибробласты через 72 часа культивирования на шероховатой поверхности материала «Реперен 4». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

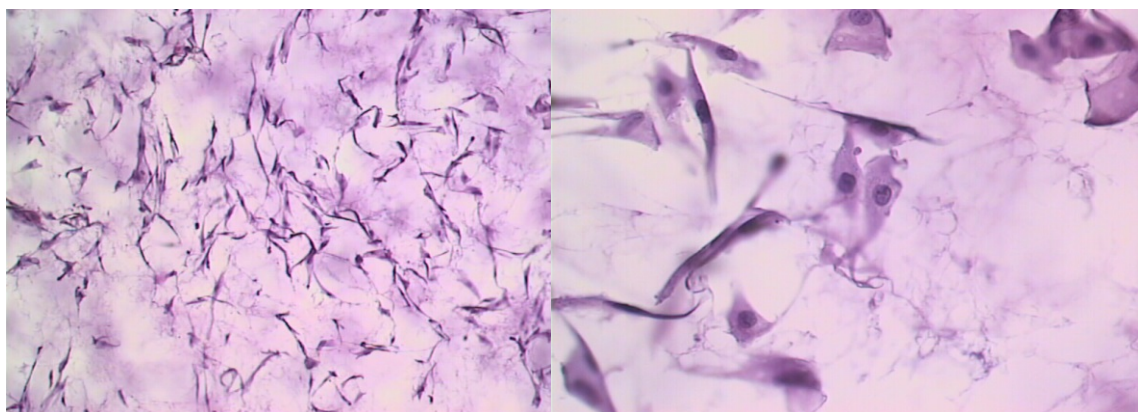
Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 40.

Таблица 40. - Количество клеток в 10 полях зрения на шероховатой поверхности материала «Реперен 4»

№ поля	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее
--------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	---------

зрения											значение
Число клеток	35	32	28	30	26	16	27	29	30	29	28,2

При исследовании образцов покрытие «Neuro-Patch» с культурой клеток фибробластов. В исследованных препаратах имеются тонкие довольно мелкие вытянутые отростчатые клетки со слабо базофильной протоплазмой и базофильным ядром. Клетки расположены отдельно либо мелкими группами (рисунок 137).



А

Б

Рисунок 137.– Фибробласты через 72 часа культивирования на покрытии «Neuro-Patch». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 41.

Таблица 41. – Количество клеток в 10 полях зрения на материале «Neuro-Patch»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	45	51	45	36	32	36	39	39	48	36	40,7

Различия по количеству клеток на поверхности материалов представлены на рисунке 138.

При исследовании образца «Реперен-4» с гладкой поверхностью через 96 часов после посева клеток в исследованных препаратах располагаются крупные клетки со слабо базофильной протоплазмой и базофильным ядром с хорошо различимыми ядрышками, тесно сопряженные друг с другом, образующие

«завихрения». Следует отметить, что в данных препаратах количество клеток несколько меньше, чем в предыдущих сроках, но это связано с большим размером клеток в данном опыте (рисунок 139).

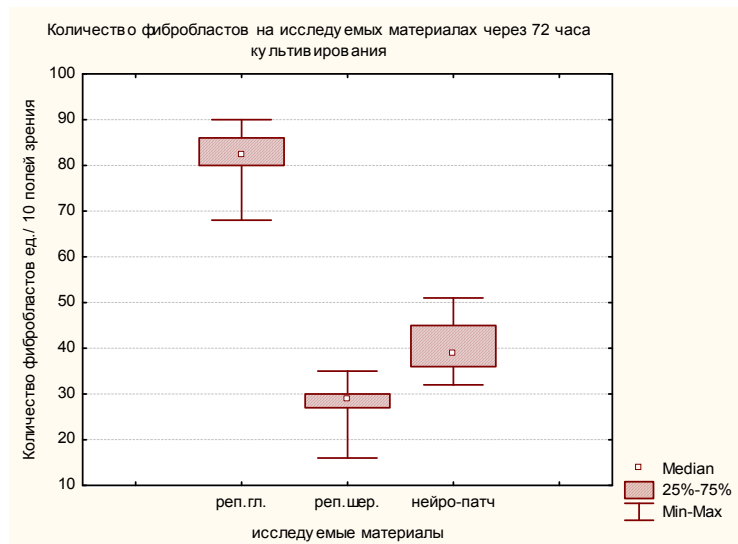
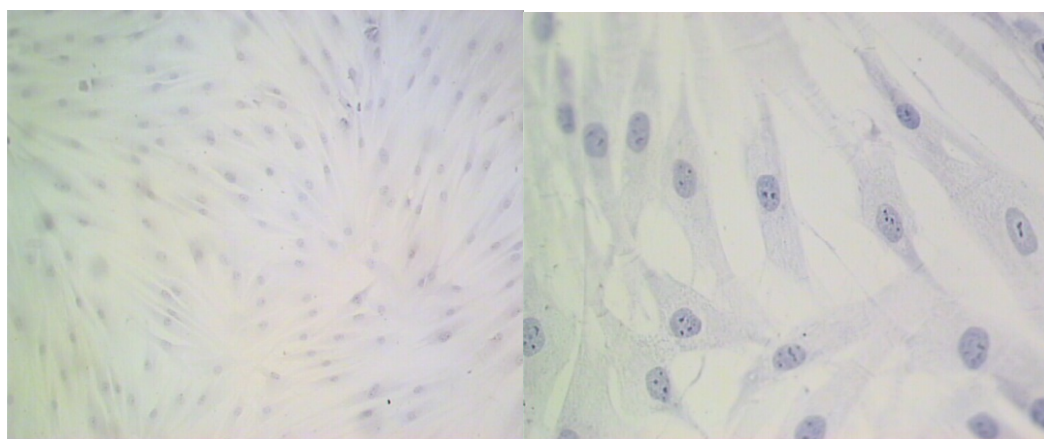


Рисунок 139.– Количество фибробластов через 72 часа наблюдения

Различия между группами статистически значимы: $H_{kw}=25,48$; $p<0,0001$. $\chi^2 =20,35$; $p<0,0001$



А

Б

Рисунок 139.– Фибробласты через 96 часа культивирования на гладкой поверхности материала «Реперен 4». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 42.

Таблица 42.– Количество клеток в 10 полях зрения на гладкой поверхности материала «Реперен 4»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	46	53	62	69	56	66	64	46	44	56	56,2

При исследовании образцов «Реперен-4» с шероховатой поверхностью с культурой клеток фибробластов в исследованных препаратах имеются крупные клетки со слабо базофильной протоплазмой довольно крупным округлым или овальным ядром с хорошо различимыми ядрышками, слабо базофильной протоплазмой. Клетки расположены в лунках, тесно сопряжены друг с другом (рисунок 140).

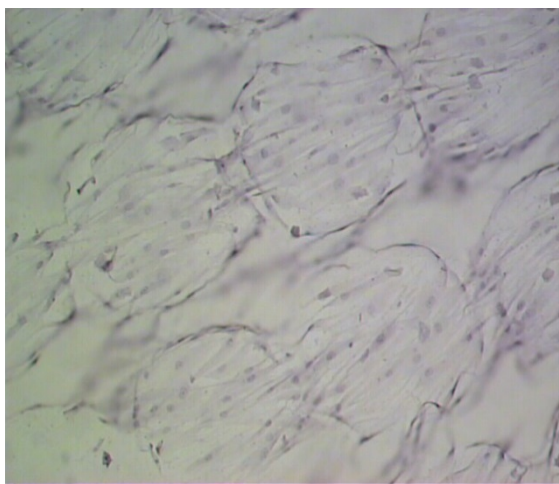


Рисунок 140. – Фибробласты через 96 часов культивирования на шероховатой поверхности «Реперен 4» (окраска гематоксилин – эозин, ув. x100)

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 43.

Таблица 43. - Количество клеток в 10 полях зрения на шероховатой поверхности материала «Реперен 4»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	46	44	59	38	54	39	58	45	60	58	50,1

При исследовании образцов покрытия «Neuro-Patch» производства В.Враун; с культурой клеток фибробластов в исследованных препаратах имеются вытянутые, отростчатые довольно мелкие клетки с базофильным ядром и слабо базофильной протоплазмой. Клетки преимущественно лежат отдельно, либо формируют мелкие группы, местами образуя многослойные пласты (рисунок 141).

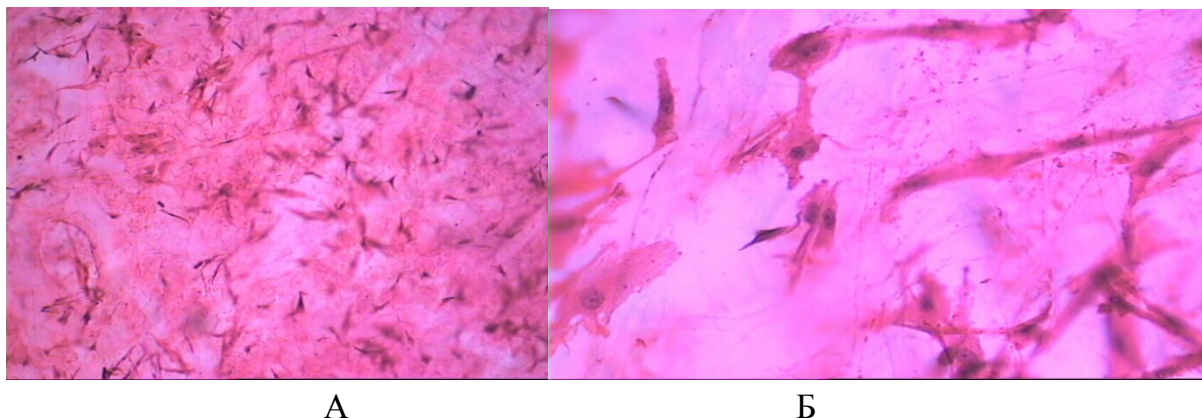


Рисунок 141. – Фибробласты через 96 часа культивирования на покрытии «Neuro-Patch». Окраска гематоксилин – эозин. А - ув. х-100. Б - ув. х-400

Подсчет клеток в 10 полях зрения при увеличении X 400 представлен в таблице 44.

Таблица 44. – Количество клеток в 10 полях зрения на материале «Neuro-Patch»

№ поля зрения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение
Число клеток	30	35	45	65	40	45	43	38	39	49	42,9

Различия по количеству клеток на поверхности материалов представлены на рисунке 142.

Проведенное обследование показало, что в контрольных чашках фиксируется отчетливое нарастание плотности нативной культуры в процессе наблюдения при отсутствии клеточного дебриса и деструктивных изменений, что свидетельствует о хорошем качестве тестовой культуры.

В чашках с покрытием «Реперен-4» как на гладкой, так на шероховатой поверхности отмечается отчетливое нарастание плотности нативной культуры в процессе наблюдения, деструктивных изменений клеток и клеточного дебриса не фиксируется. Клеточные культуры растут монослоем, не определяется наличие разрозненных групп клеток, нарастания их друг на друга. При окраске на поверхности покрытия визуальная картина аналогична.



Рисунок 142. – Количество фибробластов через 96 часов наблюдения

Различия между группами статистически не значимы:

$$H_{\text{KW}}=8,5; p=0,014. \chi^2=5,08; p=0,078$$

В чашках с образцами «Neuro-Patch» контролировать рост нативной культуры не представляется возможным из-за структуры покрытия.

При гистологическом исследовании в группах наибольшее количество клеток наблюдается в образце «Реперен 4» с гладкой поверхностью. Причем через 48 часов наблюдения это увеличение клеток – почти в 2 раза по сравнению с группой «Реперен 4» с шероховатой поверхностью и в 3,5 раза по сравнению с группой, где использовался материал «Neuro-Patch». Через 72 часа это различие сохраняется между группами, где применялся «Реперен -4», тогда как в группе с «Neuro-Patch» по сравнению с группой, где использовался «Реперен 4» с гладкой

поверхностью уровень различия снижается, однако остается достоверным (рисунок 143).

Через 96 часов культивирования различия в количестве клеток на исследуемых материалах становятся статистически незначимыми. Однако в отличие от «Neuro-Patch» рост клеточной культуры на пластине «Реперен» происходит только в виде монослоя. Учитывая также то, что прозрачная структура пластины «Реперен» позволяет визуальное контролировать размещение пластины над всеми поврежденными участками коры мозга, и структура пластины «Реперен» более мягкая, по сравнению с «Neuro-Patch», мы остановились на использовании пластины «Реперен» ввиду наличия его указанных выше преимуществ перед оболочкой «Neuro-Patch».

Рисунок 143. –Средние значения количества клеток в изучаемых группах через 48, 72, 96 ч.

Технически установку и фиксацию субдурального импланта осуществляли следующим образом. После удаления опухоли, и гемостаза визуально определяли участки повреждения коры головного мозга, субарахноидального кровоизлияния и повреждения арахноидальной оболочки. Затем субдурально, под твердую мозговую оболочку устанавливали искусственный имплант, под визуальным контролем смещали его по поверхности мозга, перекрывая все участки повреждения коры. В центре костного лоскута формировали два отверстия. Затем

в центре лоскута твердой мозговой оболочки снаружи проводили нить, прошивая имплант в центре. Концы нити выводили на наружную поверхность твердой мозговой оболочки, не завязывая ее, затем выполняли подшивание импланта по периметру разреза твердой мозговой оболочки и герметичное ушивание самой оболочки. Через два сформированных отверстия в центре костного лоскута выводили концы нити с центра твердой мозговой оболочки, устанавливали костный лоскут на место, фиксировали его и завязывали концы, подтягивая твердую мозговую оболочку и имплант к внутренней костной пластинке костного лоскута. Данный способ подшивания исключает деформацию импланта, обеспечивает сферичность его формы, что исключает раздражение коры головного мозга. При выполнении повторных оперативных вмешательств по поводу продолженного роста опухолей в 15 случаях, когда при первичной операции был установлен субдуральный имплант, внутренняя поверхность ТМО гладкая, во всех случаях рубцы между ТМО и корой мозга отсутствовали (рисунок 144). Полностью отсутствовали также рубцы и между имплантом, корой головного мозга и опухолью.

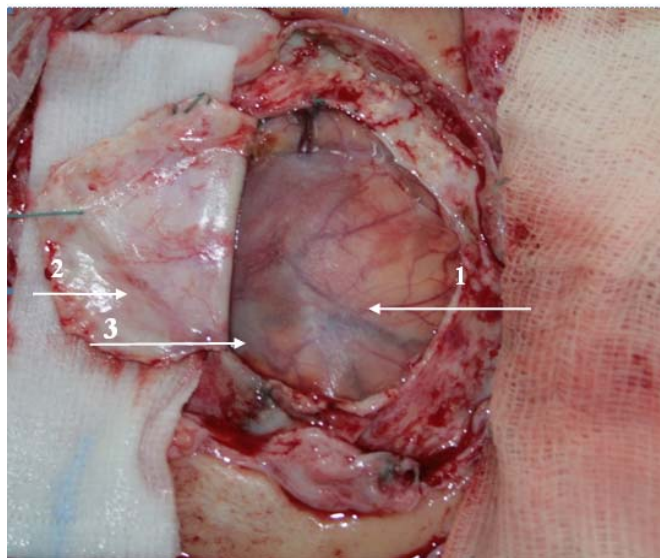


Рисунок 144. – После разреза ТМО по поводу продолженного роста ГБ у больной А субдурально определяется имплант из реперена, рубцов нет. 1 – имплант из реперена; 2 – ТМО; 3 – зона доступа к опухоли от предыдущей операции

Кроме того, даже при прорастании опухолью коры и субдуральном ее расположении прорастания опухолью внутренней пластинки ТМО не отмечалось.

Клинический пример 17. Больная М., 35 лет, и/б № 264523, впервые оперирована по поводу опухоли – фибриллярно-протоплазматической астроцитомы височной доли справа. Госпитализирована с жалобами на головную боль, эпилептические приступы с частотой до 5-6 р в день, с судорожным компонентом с частотой 1 раз в месяц. Частота приступов выросла после первой операции. Состояние по шкале Карновского при поступлении 70 баллов. По ЭЭГ от 30.10.12 – выявлены грубые диффузные изменения биоэлектрической активности головного мозга с редукцией основного ритма, очаг патологической активности (медленно волновой и эпилептиформной) в лобно-центральной и височно-теменной области правого полушария. По МРТ от 12.06.2012 – продолженный рост кистозной опухоли височно-теменной области (рисунок 145).

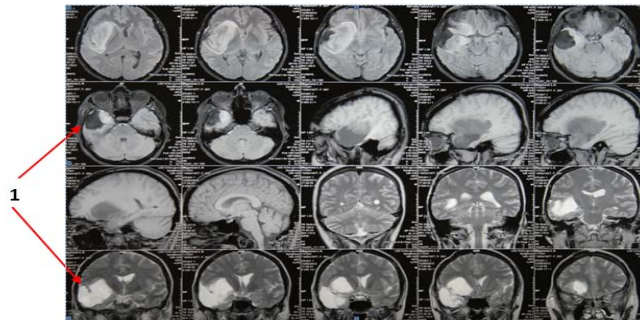


Рисунок 145. – МРТ больной М от 12.06.2012 – продолженный рост астроцитомы лобно-височно-теменной области справа. 1 – участки с интраоперационно выявленными оболочечно-мозговыми рубцами на границе кисты, опухоли и мозговой ткани

Учитывая наличие продолженного роста опухоли, её объемного воздействия, фармакорезистентной эпилепсии, больная оперирована повторно 11.10.2012. Во время операции выявлено, что по всей границе с кистой, по верхнему и заднему краям мозговой раны от предыдущей операции (верхняя височная извилина и нижний край теменной доли) и внутренней поверхностью ТМО сформировались плотные оболочечно-мозговые рубцы протяженностью около 5 см и шириной 0,5-1 см (рисунок 146).

Рубцы на всем протяжении были иссечены, опухоль удалена. После гемостаза субдурально установлен искусственный имплант, который полностью перекрывал площадь образовавшейся операционной раны, зону рубцовых

изменений после предыдущей операции и был подшит к внутренней поверхности твёрдой мозговой оболочки по периметру ее разреза.

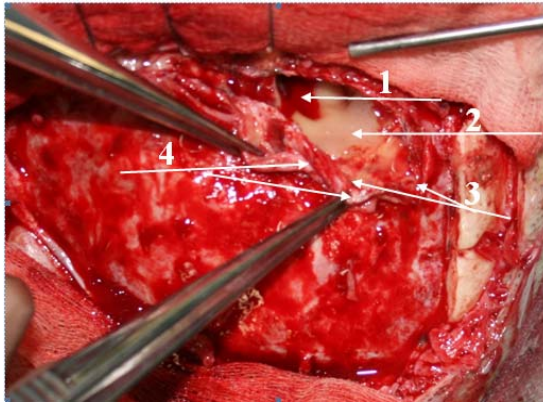


Рисунок 146.– Этап операции: 1- полость опухолевой кисты; 2- опухоль; 3 - оболочечно-мозговые рубцы; 4 – ТМО, плотно сращена с рубцом по границе опухолевой кисты и опухоли

Имплант был также прошит в центре лоскута твёрдой мозговой оболочки и подшит к центру костного лоскута. При КТ контроле от 12.10.2014 – состояние после удаления опухоли (рисунок 147).

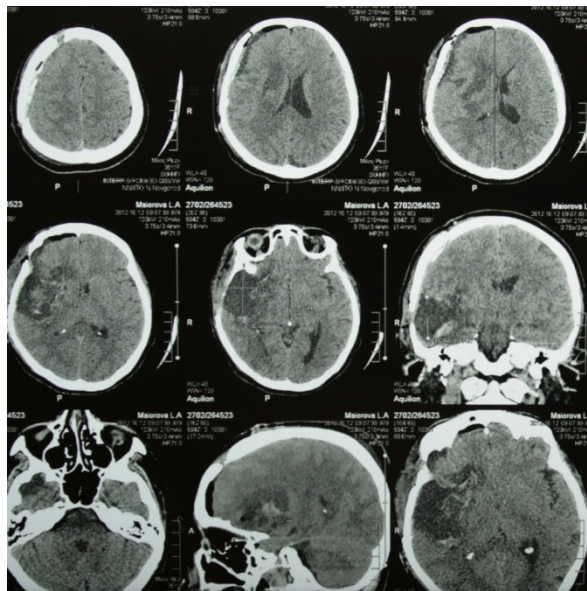


Рисунок 147. – КТ больной М от 12.10.14 – послеоперационная киста в зоне операции, суржигель в ложе опухоли

В послеоперационном периоде за 4 месяца у больной не было зарегистрировано ни одного эпилептического приступа, головные боли регрессировали. При ЭЭГ от 30.01.2013 и 4.04.2013 в сравнении с ЭЭГ от

30.10.2012 – отчетливая положительная динамика в виде ослабления эпилептиформной и медленно волновой активности в правом полушарии. Больная прекратила прием противосудорожных препаратов.

В послеоперационном периоде за 4 месяца у больной не было зарегистрировано ни одного эпилептического приступа, головные боли регрессировали. При ЭЭГ от 30.01.2013 и 4.04.2013 в сравнении с ЭЭГ от 30.10.2012 – отчетливая положительная динамика в виде ослабления эпилептиформной и медленно волновой активности в правом полушарии. Больная прекратила прием противосудорожных препаратов.

При наблюдении за больной по состоянию на 18.03.2015 эпилептических приступов зафиксировано не было. Данных за продолженный рост опухоли также не было.

Таким образом, установка субдуральной пластины «Реперен» предотвращает образование оболочечно-мозговых рубцов в послеоперационном периоде, облегчает доступ к опухоли при повторных оперативных вмешательствах.

Поэтому, установка субдуральной мембраны является принципиально важным дополнением при операциях по поводу всех глиальных опухолей независимо от объема их удаления. Учитывая преимущества данной методики, считаем также необходимым ее установку при субтотальном и частичном удалении доброкачественных опухолей.

Основная цель хирургии ЗОГМ – достижение максимально возможной резекции опухоли при обеспечении максимально возможного сохранения качества жизни больных. Дополнение существующих хирургических методик новыми адьювантными подходами, включающими использование тепловидения, «путевых меток» улучшают возможности нейрохирургов в плане интраоперационной диагностики даже мелких и множественных опухолей, и позволяют легко выявлять и максимально безопасно удалять мелкие глубинные очаги. Установка субдуральной мембраны «Реперен» обеспечивает во всех случаях полное отсутствие оболочечно-мозговых рубцов и создает благоприятные условия при выполнении повторных оперативных вмешательств.

По данной методике получен патент на изобретение № 2463598 от 30.09.2011. «Способ лечения повреждений головного мозга».

5.2 Инструментальный контроль ФДТ

Само по себе оперативное вмешательство в хирургии ЗОГМ не обеспечивает абластичности. Поэтому весьма актуальными остаются разработка и применение селективных методов воздействия на опухолевые клетки, к которым относится ФДТ, которая улучшает отдаленные результаты, приводя к увеличению выживаемости пациентов [Bernstein M., 2008].

Нарушение местного и системного про- и антиоксидантного равновесия при развитии ОГМ является важным патогенетическим фактором, влияющим на динамику развития заболевания и эффективность лечения (Франкиянц Е.М., и соавт., 2005; Давыденко, Д.В., 2013). Механизм действия ФДТ основан на повреждении опухоли образующимися в результате взаимодействия фотосенсибилизатора, накопленного преимущественно в опухолевых клетках и лазерного излучения СРС. Это обосновывает необходимость изучения состояния про- и антиоксидантной системы и степени ЭИ у больных с опухолями головного мозга, которым интраоперационно использовалась ФДТ.

Побочным эффектом ФДТ является нагревание облучаемых тканей. Если в общей онкологии на это особо не обращают внимания, то в нейроонкологии даже относительно незначительное повышение температуры ткани мозга, особенно в функционально или жизненно важных зонах, может привести к возникновению осложнений [Karaszewski B., 2006]. Поэтому поиск методов, направленных на снижение ФДТ-индуцированного перитуморального отека остается актуальным.

5.2.1 Тепловизионный контроль ФДТ

Метод ФДТ предполагает проведение четко определенного времени облучения, которое рассчитывается с учетом нескольких параметров: размеров опухоли или площади облучаемой зоны, мощности излучения лазера, вида фотосенсибилизатора. После удаления больших глиальных опухолей необходимое расчетное время для облучения образовавшегося ложа иногда

достигает 30 минут и более, что может привести к перегреванию окружающих тканей.

Нами исследовано влияние ФДТ послеоперационной мозговой раны (ложа опухоли), образовавшегося после удаления опухоли головного мозга на развитие послеоперационного отека, оценена роль тепловидения в контроле нагрева мозговых тканей в процессе лазерного облучения.

Проанализированы результаты лечения 20 больных ЗОГМ, которым интраоперационно проводилась ФДТ. Больные были представлены двумя группами: в основной группе (группа 1, n=12) ФДТ выполнялась под интраоперационным ТВ контролем, в контрольной группе (группа 2, n=8) – без ТВ контроля. В 1 группе было 12 больных глиальными опухолями. Вторая группа представлена 7 больными глиальными опухолями, 1 больной с множественными метастазами. При поступлении всем пациентам проводилось стандартное неврологическое, лабораторное обследование и компьютерная томография головного мозга, качество жизни оценивалось по шкале Карновского. Сравнение групп по ряду параметров, полученных при обследовании пациентов на момент поступления, с анализом случайности их распределения показало, что обе группы оказались идентичными по полу, возрасту, локализации и распространенности опухолевого процесса, баллам по шкале Карновского (таблица 45).

При ФДТ использовали фотосенсибилизатор фотодитазин в дозе 0,8-1,0 мг/кг. Лазерное облучение осуществляли полупроводниковым лазером с длиной волны 661 нм в среднем через 4-6 часов после введения препарата. При поверхностно расположенных опухолях использовали торцовый световод, мощность излучения при этом составляла 2,0 Вт, при глубинных опухолях – световод с насадками, при этом использовали мощность излучения 2,5 Вт. Оценку термического эффекта ФДТ осуществляли непрерывно с помощью ТВ камеры Thermo Tracer TH-9100 (NEC, Япония), работающей в спектральном диапазоне 8-14 мкм, обладающей чувствительностью 0,025-0,03°C при погрешности $\pm 1\%$ и разрешением ИК матрицы 320x240 пикселей.

Таблица 45.– Общая характеристика исследуемой и контрольной групп

Сравниваемые параметры	Группа 1 (n=12) ФДТ с ТВ контролем Me (Q1;Q3) ¹	Группа 2 (n=8) ФДТ без ТВ контроля Me (Q1;Q3)	Уровень значимости, <i>p</i>
Пол (мужской/женский) ²	5/7	3/5	0,663; 0,666
Возраст, лет ³	52 (44;60]	53(51;60)	1,0
Степень злокачественности опухоли (Grade II/Grade IV/MTS)	0/12/0	1/6/1	0,368; 0,779
Локализация опухоли в полушариях (правое/левое) ²	5/7	4/4	0,43; 0,86
Распространенность опухоли (одна доля/две и более доли) ²	5/7	4/4	0,43; 0,86
Длительность ФДТ, мин. ³	10(6;15)	11 (8;18)	0,67
Шкала Карновского до операции, проценты ³	60 (60;70)	60 (60;70)	0,75

Примечание: ¹Me – медиана; [Q1;Q3] – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения; ²Точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса; ³U-критерий Манна-Уитни; ⁴критерий χ^2 Пирсона.

Камеру устанавливали стационарно таким образом, чтобы иметь максимальный обзор ложа, не создавая помех оперирующей бригаде и соблюдая стерильность (рисунок 148). Ограничивающим значением максимально допустимой температуры мозговых тканей считали 37,63°C (Karaszewski В., 2006). Камера, непрерывно мониторируя раневую поверхность, предупреждала звуковым сигналом в момент, когда температура в любой точке облучаемой зоны превышала значение 37,6°C, и мозговую рану наполняли, охлаждая, стерильным физиологическим раствором температурой 24-26°C, который затем аспирировали отсосом. При условии тщательного гемостаза лазерное излучение с длиной волны 661 нм проникает через прозрачный физиологический раствор, поэтому при охлаждении процедуру ФДТ и ТВ контроль не прерывали.



Рисунок 148. – Интраоперационный термоконтроль процесса ФДТ

Проведено сравнение расчетных размеров перифокального отека в до- и послеоперационном периодах у 12 больных, оперированных с ФДТ под ТВ контролем, и у 8 больных, оперированных с ФДТ без такого контроля. Размеры образований оценивали по результатам КТ, выполненным на аппарате Aquilion 32 TOSHIBA (Япония) в дооперационном периоде и в первые сутки после операции. Для вычисления размеров опухоли, а также опухоли и перифокального отека на идентичных срезах в до- и послеоперационном периодах использовали. Для сравнения размеров опухоли на аксиальных и коронарных проекциях, а также опухоли и перифокального отека на идентичных срезах в до- и послеоперационном периодах использовали стандартную программную среду Vitrea для компьютерного томографа Toshiba Aquilion 32, а так же Onis 2.5 freedition (www.onis-viewer.com). Затем сравнивали размеры перифокального отека до и после операции в обеих группах.

По нашим данным, средняя температура образующегося после удаления опухоли ложа составила $32,16 \pm 2,67^{\circ}\text{C}$, перифокальной зоны мозговой раны (зона, окаймляющая ее с отступом до 1 см от края) – $32,09 \pm 1,85^{\circ}\text{C}$, а коры на отдалении – $34,59 \pm 1,69^{\circ}\text{C}$ (рисунок 149). Анализировали интегральные значения температур каждой из трех областей.

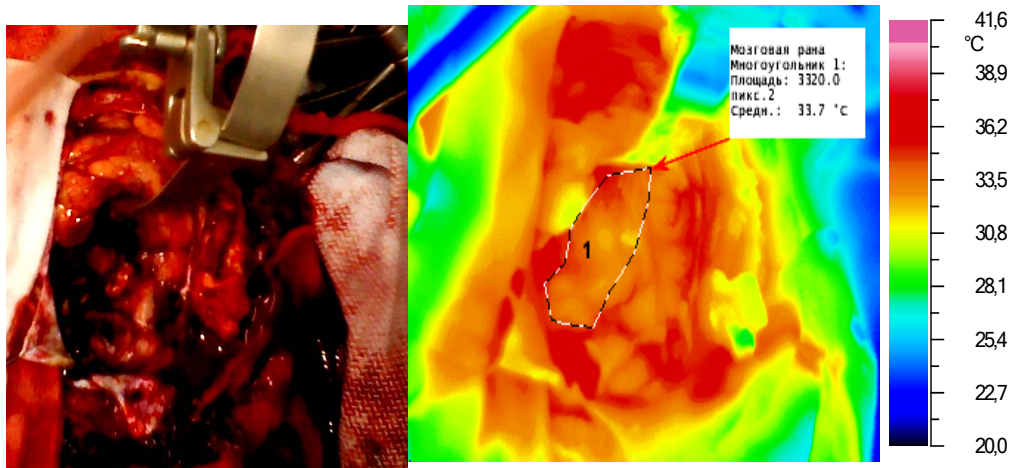


Рисунок 149.– Пример распределения температуры раневой поверхности мозга после удаления опухоли

В контрольной группе ТВ измерения до, и на протяжении 5 минут по окончании ФДТ в этих трех областях в пределах открытого сегмента коры позволили получить данные о динамике температур внутри мозговой раны, в ее перифокальной зоне и в коре на отдалении (рисунок 150). Поскольку для имеющейся выборки вследствие разнообразия клинических контекстов не удалось получить достоверных данных, можно оценить лишь тенденции изменений распределения температуры коры в ответ на ФДТ.

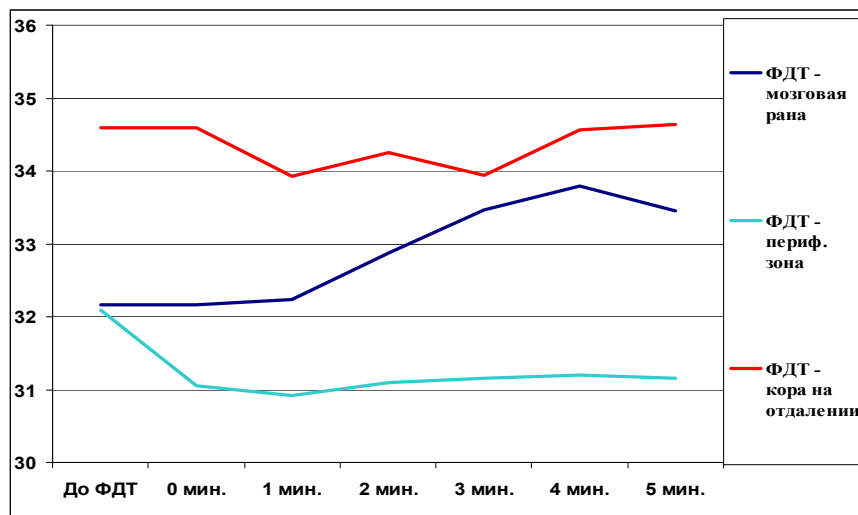


Рисунок 150. – Динамика температур в мозговой ране (синяя кривая), перифокальной зоне (голубая кривая) и коре на отдалении (красная кривая) до и в течение 5 минут после ФДТ у больных контрольной группы (n=8). Ось X – этапы замеров, ось Y – температура, °C

Очевидно, что влияние ФДТ на локальный мозговой кровоток в относительно интактной коре, отстоящей более чем на 1 см от операционной

раны, незначительно. Отставленное во времени на 3-5 минут повышение температуры в мозговой ране объяснимо отсутствием естественной конвекции вследствие кюветного эффекта в глубокой полости после индуцированного облучением неконтролируемого нагрева. Наиболее критичным может оказаться, на наш взгляд, значимое (более 1°C) и стойкое снижение температуры в проекции перифокальной зоны мозговой раны, а ее охлаждение – неблагоприятный прогностический признак. Данный факт явился дополнительным основанием для разработки методики контроля предельно допустимого нагрева мозговых тканей.

Размеры и динамика перифокального отека в обеих группах по аксиальным и коронарным срезам представлены в таблице 46.

Перифокальный отек в основной группе, по данным анализа аксиального и коронарного срезов, в первые сутки после операции уменьшился и составил 50,4% (16,4; 79,3) и 88,5% (30,3; 110,6) от дооперационного, соответственно. В контрольной группе, где не проводили ТВ контроль, послеоперационный отек составил 227,9% (92,4; 303,8) и 154,7% (84,5; 150,3) от исходного. При этом динамика перифокального отека по аксиальному срезу оказалась статистически достоверной, $p=0,004$ (рисунок 151 и 152).

Таблица 46.– Размеры и динамика перифокального отека в основной (ФДТ с ТВ контролем) и контрольной (ФДТ без ТВ-контроля) группах

Сравниваемые параметры	Группа 1 (n=12) ФДТ с ТВ контролем Me (Q1;Q3)*	Группа 2 (n=8) ФДТ без ТВ контроля Me (Q1;Q3)	Уровень значимости, <i>p</i>
Размер отека по аксиальному срезу до операции (мм ²)**	3531 (2025;3880)	2204 (266;3642)	0,14
Размер отека по аксиальному срезу после операции (мм ²)**	1555 (456;2980)	4535 (1072;6402)	0,057
Размер отека по коронарному срезу до операции (мм ²)**	3123 (1161;4683)	2307 (942;4050)	0,65
Размер отека по коронарному срезу после операции (мм ²)**	1754 (496;3471)	3285 (1200;5945)	0,17

Продолжение таблицы 46

Отношение перифокального послеоперационного отека к	50,4 (16,4;79,3)	227,9 (92,4;303,8)	0,004
---	------------------	--------------------	-------

дооперационному на аксиальном срезе (%) **			
Отношение перифокального послеоперационного отека к дооперационному на коронарном срезе (%) **	88,5 [30,3;110,6]	154,7 (84,5;150,3)	0,11

Примечание: *Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; **U-критерий Манна-Уитни.

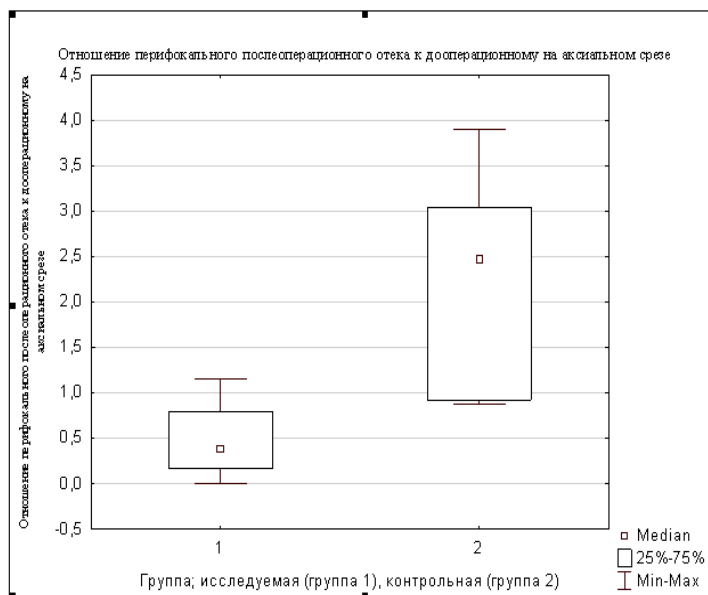


Рисунок 151. – Отношение перифокального послеоперационного отека к дооперационному на аксиальном срезе

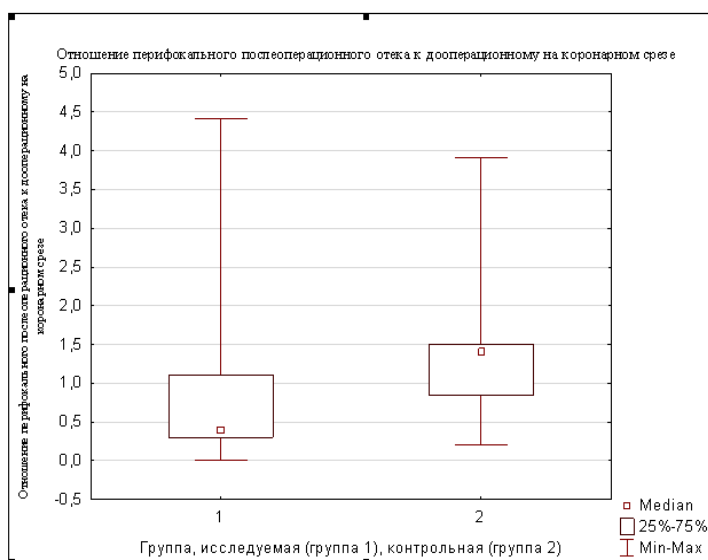


Рисунок 152. – Отношение перифокального послеоперационного отека к дооперационному на коронарном срезе

Проведенные расчеты показывают, что перифокальный отек в послеоперационном периоде в исследуемой группе уменьшился на 20-50%, а в контрольной увеличился на 50-230%.

В первой группе состояние больных по шкале Карновского после операции при выписке составило 80 (70;90) баллов, во второй группе также 80 [60;90] баллов.

При гистологическом исследовании идентичных участков стенок ложа, образовавшегося после удаления опухоли (перифокальной зоны) до и после сеанса ФДТ выявлено, что на полутонких срезах препаратов до сеансов ФДТ отмечено довольно тесное расположение клеточных элементов с наличием полнокровных сосудов (рисунок 153 А). После ФДТ – отмечался выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек мозговой ткани с довольно обособленным расположением клеточных элементов (рисунок 153 Б).

А

Б

Рисунок 153. – Перифокальная зона опухоли: А – до сеанса ФДТ; Б – после проведенной ФДТ. Увеличение x400, окраска метиленовый синий - азури II – основным фуксин

Анализ ближайших результатов лечения больных ЗОГМ (1е сутки после операции) при проведении термоконтроля в процессе ФДТ свидетельствует о снижении размеров отека в послеоперационном периоде по сравнению с дооперационным. В случае неполного удаления опухоли ее остатки, внутримозговые гематомы и гематомы в ложе опухоли сами по себе являются причиной сохранения отека в послеоперационном периоде. В основной группе тотально удалены опухоли в 10 случаях, в 1 – субтотально и в 1 – частично. У двух больных в послеоперационном периоде в ложе опухоли выявлены небольшие, не требующие хирургического лечения гематомы. Тем не менее, в этой группе отмечено снижение площади отека в послеоперационном периоде. В контрольной группе столь значимое увеличение отека обусловлено преимущественно термическим эффектом, поскольку тотально опухоли были удалены в 7 случаях, в

1 – частично, у одной больной в первые сутки после операции произошло ОНМК с формированием внутримозговой гематомы в зоне операции, было выполнено хирургическое удаление гематомы. Среднее время ФДТ в обеих группах было примерно одинаковым (таблица 45). Во второй группе в 3 случаях после удаления опухоли в зоне операции отсутствовали послеоперационные кисты, обычно образующиеся после удаления опухоли, ложе опухоли полностью спалось на фоне послеоперационного отека.

Качество жизни по шкале Карновского оценивалось при выписке пациентов из стационара, достоверного отличия в обеих группах не выявлено. В послеоперационном периоде, в зависимости от выраженности отека, по данным КТ, больным назначался дексаметазон – от 4 до 24 мг в сутки в первые сутки с постепенным снижением дозы. Необходимость проведения более длительной противоотечной терапии с целью снижения отека в послеоперационном периоде привела к увеличению среднего пребывания больных в стационаре от 16,0 [12; 21,5] в основной группе до 20,8 [14; 28] в контрольной. Отек, развивающийся после ФДТ, был достаточно устойчив к терапии дексаметазоном и регрессировал на 14-21 день после операции.

Длительность предоперационного периода у обеих групп достоверно не отличалась.

Важность и необходимость выполнения контроля температуры во время ФДТ доказывается тем, что при облучении ложа, образовавшегося после удаления опухоли, задержка наконечника световода на одном месте даже на несколько секунд может привести к локальному повышению температуры облучаемых тканей до 38°C (рисунок 154).

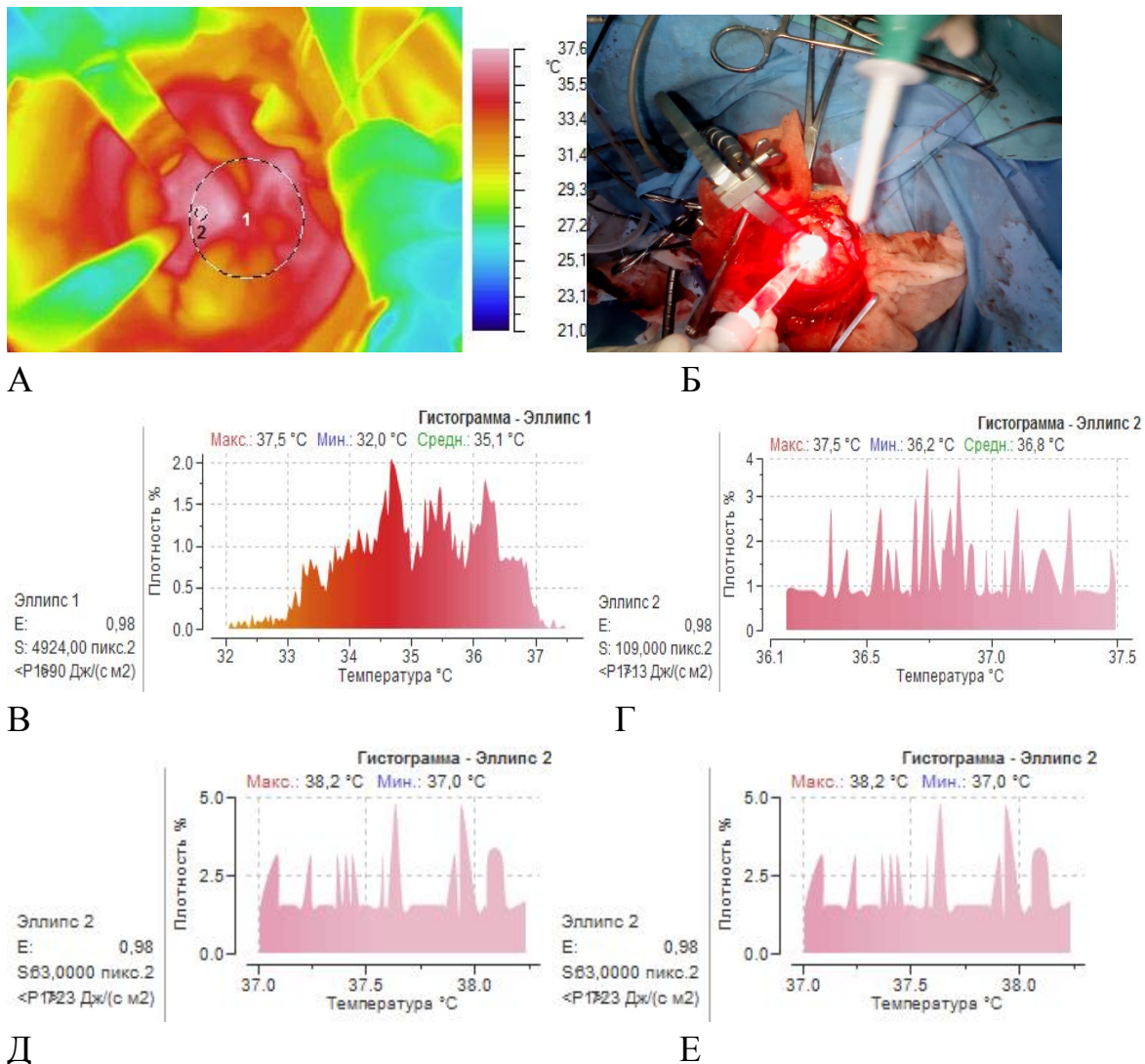


Рисунок 154. –Превышение предельно допустимой температуры на этапе ФДТ. А – термокарта мозговой раны во время облучения. Б – интраоперационная фотография процесса ФДТ. В, Д – гистограмма распределения температур в области 1 (дно мозговой раны в целом). Г, Е - гистограмма распределения температур в области 2 (под наконечником) с максимальной температурой $37,5^{\circ}\text{C}$ (В, Г, время регистрации 15.1.34.00) и $38,2^{\circ}\text{C}$ (Д, Е, время регистрации 15.1.34.04)

При гистологическом исследовании идентичных участков стенок ложа опухоли до и после сеанса ФДТ подтверждено формирование отека мозговой ткани в перифокальной зоне, возникающего сразу же после проведения ФДТ у больных опухолями головного мозга.

Процесс ФДТ сопровождается повышением температуры облучаемых тканей. Это является одной из причин нарастания отека перифокальной зоны в раннем послеоперационном периоде. Использование ТВ контроля при ФДТ опухолей головного мозга и орошение ложа опухоли стерильным охлажденным

физиологическим раствором позволяет избежать перегревания тканей и усиления отека, что позволяет снизить время пребывания больного в стационаре.

При исследовании было выявлено, что выполнение постоянных сканирующих движений наконечника световода над поверхностью ложа опухоли во время ФДТ с указанными выше параметрами излучения и при использовании одного и того же шарообразного наконечника световода, орошение ложа охлажденным до 24-26°C физиологическим раствором с периодичностью один раз в минуту позволяет избежать перегревания окружающих тканей. Данный подход может быть использован при отсутствии возможности выполнения интраоперационного термоконтроля в ходе ФДТ.

5.2.2 Динамика свободнорадикальных процессов и эндотоксемии при фотодинамической терапии опухолей головного мозга

Учитывая нарастание отека в перифокальной зоне после ФДТ мы провели оценку изменений интенсивности СРО, антиоксидантного потенциала и степени выраженности эндогенной интоксикации у пациентов со злокачественными опухолями головного мозга после проведенной интраоперационно ФТД.

Проведено простое, проспективное, когортное исследование 35 больных опухолями головного мозга. Из них глиобластомы (степень анаплазии Grade IV) диагностированы у 13 больных, анапластические астроцитомы (Grade II-III) – у 11, вторичные метастатические опухоли – у 6 (2 больных – рак молочной железы, 1 больная – рак легких, 1 пациент – рак почки, 1 пациент – метастаз семиномы), доброкачественные опухоли (менингиомы) – у 5 пациентов. Диагноз верифицирован в послеоперационном периоде при морфологическом исследовании опухолевой ткани.

Материалом для исследований служила венозная кровь. Забор крови осуществлялся трижды: за сутки до операции, на 5-7 и 12-14 сутки после операции. Пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от степени анаплазии и гистологического характера опухоли. В первую группу вошли больные с опухолями Grade II-III, во вторую – Grade IV, в третью – больные с

метастатическим поражением головного мозга, в 4 группу вошли пациенты с доброкачественными опухолями мозга.

Группу сравнения составили 40 здоровых людей.

Удаление опухоли и проведение ФТД у пациентов с анаплазией Grade IV, III-II степени способствовало стимуляции антиоксидантной емкости крови (рисунок 155).

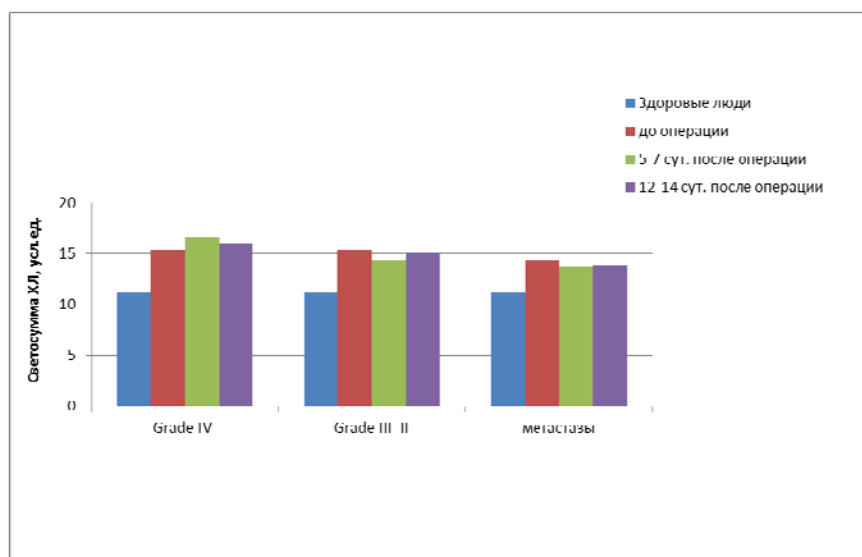


Рисунок 155. – Динамика свободнорадикальных процессов в сыворотке крови у пациентов с ЗОГМ

Максимально выраженное усиление СРО по сравнению с показателем до операции отмечалось у пациентов с опухолями Grade IV в первую неделю после операции – на 48 %.

У больных с метастазами в головной мозг интенсивность СРП в сыворотке крови до операции была повышенной в среднем на 28% по сравнению с показателем группы сравнения ($p < 0,05$).

Коэффициент соотношения $XL_{пл.}/АОП$ у пациентов с опухолями Grade IV и III-II как в дооперационном, так и в послеоперационном периодах превышал значение группы сравнения. Стоит отметить, что у пациентов с IV степенью анаплазии этот параметр был ниже, чем у больных с III и II степенью, что связано с более выраженным повышением АОП у больных этой группы. В первую неделю после операции в указанных группах отмечалось небольшое снижение данного показателя. Это свидетельствовало о том, что, несмотря на высокий уровень СРО,

происходила тенденция к росту АО активности. К 12-14 суткам после операции отмечалось повышение данного показателя до $0,86 \pm 0,08$ усл.ед. ($p < 0,05$).

Коэффициент соотношения $X_{\text{пл.}}/AOP$ у больных с метастазами превышал аналогичный показатель в остальных группах пациентов, за исключением коэффициента на 12-14 сутки после операции, составившего 21,65 и близкого к показателю у пациентов со II-III степенью опухолевого процесса, у которых он был равен 22 (рисунок 156).

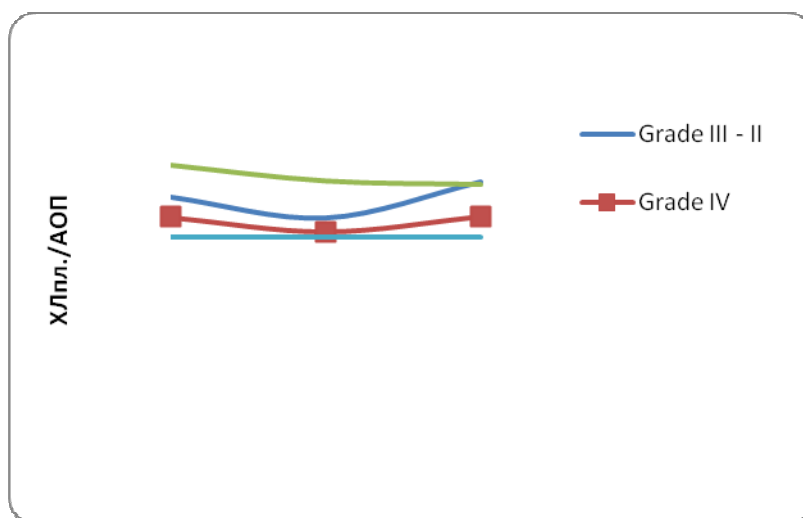


Рисунок 156. –Динамика соотношения между интенсивностью СРО и АОП у больных ЗОГМ

Усиление свободнорадикальных процессов у больных с опухолями Grade IV и Grade III-II сопровождалось статистически значимым повышением активности антиоксидантной системы защиты (рисунок 157).

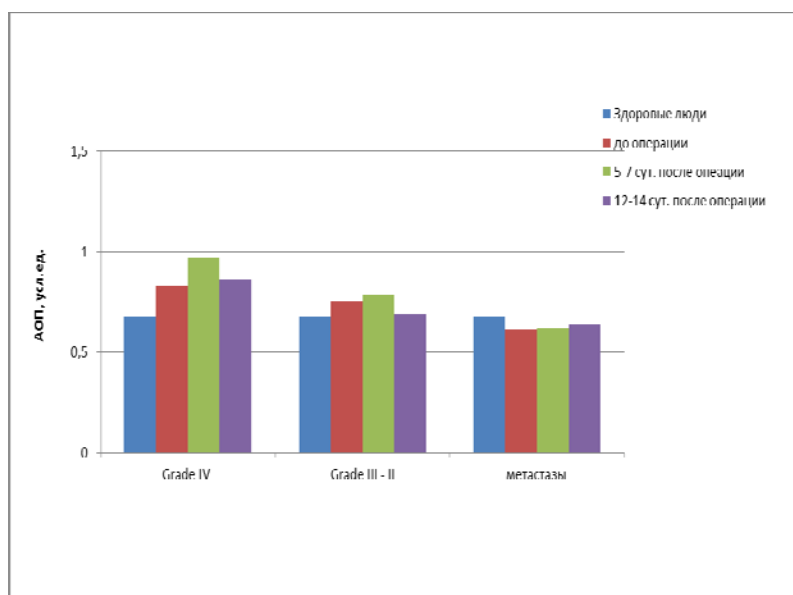


Рисунок 157. – Динамика антиоксидантного потенциала сыворотки крови больных ЗОГМ

Антиоксидантный потенциал был наибольшим у пациентов с IV степенью развития опухолевого процесса в первую неделю после операции (превышение показателя нормы на 43 %, $p < 0,05$).

Адаптивного повышения АОП у больных с метастазами не наблюдалось.

Проведение ФТД у пациентов с опухолями Grade IV, III-III степени усилению выраженности эндотоксемии в первую неделю после операции (рисунок 158).

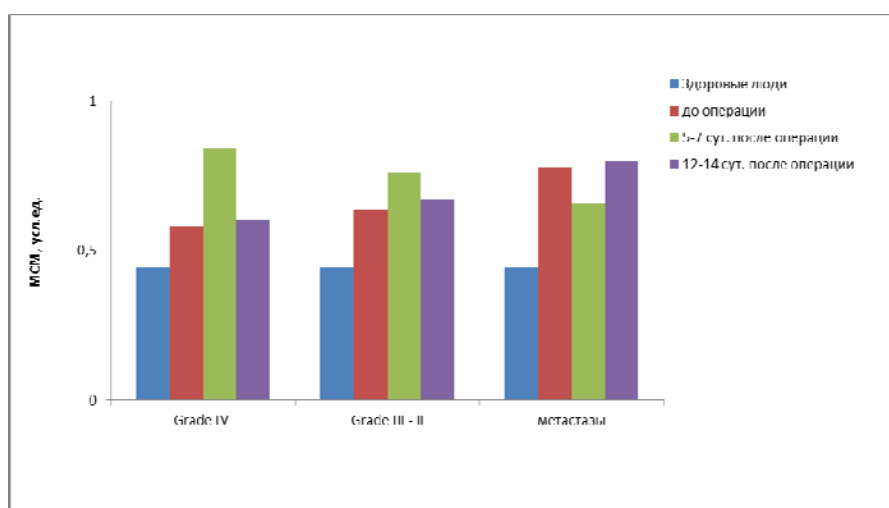


Рисунок 158. –Изменение степени эндотоксемии у пациентов со ЗОГМ

В дальнейшем в сыворотке крови отмечался сдвиг баланса в сторону прооксидантной системы и возвращение уровня молекул средней массы к дооперационному уровню. Оперативное вмешательство и проведение ФТД у больных с метастазами опухоли слабо влияли на показатели про- и антиоксидантного баланса, однако вызывали явное снижение степени интоксикации в первую неделю после операции и повышение уровня маркеров эндотоксемии ко второй неделе.

Таким образом, у пациентов с глиомами высокой и низкой степени анаплазии, в комплексе лечения которых интраоперационно применялся метод ФДТ, отмечается превалирование интенсивности СРП над АОА сыворотки крови, в большей степени выраженное при метастазировании процесса. Отмечается угнетение СРО в эритроцитах у пациентов с ОГМ.

Удаление опухоли и проведение ФТД у пациентов с II-III и IV степенью способствовали незначительному повышению антиоксидантной емкости крови и усилению выраженности эндотоксемии в первую неделю после операции. В дальнейшем в сыворотке крови отмечался сдвиг баланса в сторону прооксидантной системы и возвращение уровня молекул средней массы к дооперационному уровню. Оперативное вмешательство и проведение ФТД у больных с метастазами опухоли слабо влияли на показатели про- и антиоксидантного статуса пациентов, однако вызывали явное снижение степени интоксикации в первую неделю после операции, с повышением уровня маркеров эндотоксемии ко второй неделе.

У больных с доброкачественными ОГМ проведение ФДТ во время операции привело к значительной активации антиоксидантной системы защиты сыворотки крови. Также был зарегистрирован синдром эндогенной интоксикации, выраженность которого снижалась ко второй неделе после операции.

Таким образом, наши исследования показали, что удаление опухоли головного мозга и интраоперационная ФДТ оказывает влияние на про- и антиоксидантное равновесие и уровень эндогенной интоксикации. Выраженность описанных изменений коррелирует со степенью злокачественности первичных ОГМ.

Появление отека после ФДТ можно объяснить механизмом действия ФДТ, с одной стороны, который основан на образовании токсичных СРС, что подтверждается нарастанием процессов СРО у больных и с другой стороны - наличием термического эффекта. Тем не менее, достоверную значимость термического эффекта в развитии отека подтверждает использование термоконтроля в процессе ФДТ. Так, интраоперационное использование тепловизионного контроля повышения температуры мозговой раны в процессе ФДТ позволяет снизить выраженность перифокального отека в послеоперационном периоде.

5.3 Фотодинамическая терапия и специфическая иммунотерапия на основе дендритных клеток в лечении ЗОГМ

К основным неблагоприятным факторам, способствующим быстрому росту опухолей, следует отнести инфильтративный рост и склонность к рецидивированию. Инфильтративный рост опухолей приводит к невозможности тотального ее удаления из-за отсутствия чётких границ «опухоль-здоровая ткань», при этом применение стандартных противоопухолевых методик оказывается малоэффективным. Этим объясняется постоянный поиск новых методов, позволяющих избирательно воздействовать на оставшиеся не удаленными опухолевые клетки. К методами, избирательно повреждающим опухолевые клетки, относятся ФДТ и СИ.

По данным ряда исследований, ФДТ является перспективным методом лечения, позволяющим увеличить выживаемость больных ЗОГМ (Whelan Н.Т., 2012; Kostron Н., 2010, 2011). Ограничивающим фактором ФДТ является невысокая глубина проникновения света в ткань мозга, достигающая 0,4 см. Это не позволяет воздействовать на глубинно расположенные опухолевые клетки в перифокальной зоне и ограничивает возможности данного метода (Олюшин В.Е., Ростовцев Д.М., 2011).

Другим перспективным методом селективного воздействия на опухолевые клетки, независящим от их локализации, является СИ на основе ДК. Комбинация ФДТ и внутриопухолевого введения ДК в эксперименте приводила к регрессу опухолей при отсутствии значимого эффекта от отдельного применения этих методик (Brandon W. et al., 2008). Иммуноterapia рассматривается как перспективный путь исследований и в нейроонкологии (Dixit S. et al., 2014; Hottinger A.F. et al., 2014).

Мы оценивали результат комбинации СИ и ФДТ в комплексном лечении 30 больных с впервые диагностированными и с рецидивами ЗОГМ. Среди них больных с опухолью Grade IV было 22, из них с вторичными опухолями - 5; 3 больных с опухолями Grade III; 2 больных с опухолями Grade II; двое больных с множественным метастатическим поражением головного мозга, и один больной с анапластической менингиомой (Grade III). Средний возраст пациентов составил – 44,9 (20-66) года. Двум больным СИ проводилась без ФДТ. Из них 1 – с опухолью Grade IV и 1 больной с опухолью Grade III. Мужчин было 9, женщин 10. Всем больным в пред- и послеоперационном периоде проводилось обследование, согласно протоколу включающие: МРТ, КТ, ЭЭГ, иммунологические исследования, проводилось изучение состояния про-антиоксидантного статуса. В послеоперационном периоде в первые сутки после операции всем больным выполнялось МРТ или КТ обследование. Всем больным выполнялась костнопластическая трепанация черепа. Удаление опухоли осуществлялось чаще всего по перифокальной зоне. При повторных оперативных вмешательствах, как правило, использовался доступ от предыдущей операции. Сеансы ФДТ проводились на фоне управляемой гипероксии с повышением парциального напряжения кислорода до 60%, что способствует улучшению результатов ФДТ (Олюшин В.Е и соавт., 2011).

Больные нами разделены на две группы: первая – лечение которых на первом этапе проводилось без применения СИ и ФДТ (таблица 46) и вторая – в комплексном лечении которых применялись СИ и ФДТ или только СИ (таблица 47).

Таблица 46. – Данные анамнеза больных с ЗОГМ, проходивших лечение без применения СИ и ФДТ

Гистология	Кол-во больных	Первичная / рецидив	Возраст	Объем удаления		Лечение		МОВ (мес)
				Т (n)	С (n)	ЛТ (n)	ХТ (n)	
Grade IV	9	9 / 0	53,9	6	3	9	6	5,3
Grade III	4	4 / 0	46,5	1	3	4	4	24,07
Grade II	2	1/0	48	0	2	1	0	43,5
Анапластическая менингиома	1	0 / 1	51	-	1	1	0	0,75

Все больные с опухолями первично оперированы в разных нейрохирургических клиниках Нижнего Новгорода, других областей и республик России. Объем удаления оценивался по представленным результатам послеоперационного обследования больных- МРТ или КТ с контрастным усилением. В этой группе одна больная с опухолью Grade III оперирована не была. Однако она была введена в группу в связи с тем, что после ПЭТ-КТ с метионином у нее была диагностирована астроцитомы Grade III теменной доли слева, после чего прошла курс лучевой терапии с темодалом в радиохирургической клинике г. Милан. В эту же группу введен больной с анапластической менингиомой (Grade III), который ранее был оперирован 11 раз.

У больных с опухолями Grade IV totally было удалено 7 опухолей, в 2 случаях опухоль удалена субтотально. Среди больных с опухолями Grade III totally удалось удалить опухоль в одном случае, в 3 – субтотально. В группе больных с опухолями Grade II все опухоли удалены субтотально. Больному с менингиомой опухоль была удалена субтотально.

В послеоперационном периоде больные получали необходимую адъювантную противоопухолевую терапию. Так, все больные с Grade IV и Grade III получили лучевую терапию в 60 Гр. 6 больных Grade IV получили химиотерапию: 3 больных получали темодал, 3 больных – PCV, 1 больной – метрономную химиотерапию. 4 больных с опухолями Grade III получили химиотерапию – все получали темодал.

В результате проводимой терапии ВП у больных с опухолями Grade IV составила 5,3 (диапазон 0,75-9) мес., у больных с опухолями Grade III – 24,07 (диапазон 8-38) мес. У пациентов с опухолями Grade II ВП – 14 и 73 мес., у больного с анапластической менингиомой – менее 1 месяца.

Во вторую группу вошли все больные с первой группы, а также пациенты, оперированные по поводу ЗОГМ (таблица 47).

Таблица 47. – Данные по лечению и катамнезу больных ЗОГМ, проходивших комбинированную терапию с применением СИ и ФДТ

Гистоло- гия	Кол-во больных	Первичная / рецидив	Возраст	Объем удаления		Лечение				ВП (мес)	МОВ (мес)
				Т (n)	С (n)	ЛТ (n)	ХТ (n)	ФДТ	СИ (n)		
Grade IV	22	8 / 13	53,25	10	12	16	19	20	22	6,57	23,28
Grade III	3	1 / 2	36,7	2	1	1	2	1	2	22,67	34,33
Grade II	2	0 / 2	48	0	2	0	2	2	2	21,0*	96,5*
МТС	3	2/1	47	2	1	2	2	3	3	3,5*	9,7

* - МВП и МОВ не достигнута

У 5 больных с опухолями Grade IV диагностирована вторичная ГБ. Эти пациенты первично оперированы по поводу опухоли Grade III и были включены в первую группу. В послеоперационном периоде больные получали необходимую адъювантную противоопухолевую терапию.

У пациентов с опухолями Grade IV тотальным удалением было в 10 случаях, в 11 опухоль удалена субтотально. 12 больных из этой группы получили ЛТ с дозой СОД в 60 Гр, 17 проводилась химиотерапия. Все больные в послеоперационном периоде получали темодал.

На фоне продолженного роста опухоли и проводимой СИ 11 больных получали дексаметазон. В результате проводимого лечения стабилизация процесса после диагностированного продолженного роста отмечена у 4, у 1 одного больного получен полный ответ на проводимую терапию.

Медиана времени без прогрессирования у больных с опухолями Grade IV составила 6,57 мес. (0,75; 42). Однако в этой группе у 5 больных был диагностирован ранний (до 1 мес.) продолженный рост опухоли, у 2 из них продолженный рост опухоли был диагностирован до начала противоопухолевой терапии, у 2 – на фоне проводимой в послеоперационном периоде ЛТ.

Среди пациентов с опухолями Grade IV выделены две группы: с первичными – группа 1 (17 больных) и вторичными – группа 2 (5 больных) опухолями. Сравнительная характеристика групп представлена в таблице 48.

Таблица 48. – Характеристика пациентов с первичными и вторичными глиобластомами

Параметры	Группа 1 (n=17) Первичные ГБМ Me (Q1;Q3) ¹	Группа 2 (n=5) Вторичные ГБМ Me (Q1;Q3)
Пол (мужской/женский)	10/7	4/1
Возраст, лет	56(40; 62)	41(41; 16)
Химиотерапия (темодал/другая)	11/6	4/1
Количество курсов иммунотерапии	7(6; 14)	5(3; 12)

Медиана общей выживаемости в группах с первичными и вторичными глиобластомами составили 12 (10; 17) и 43 (41; 51) месяцев соответственно. Данные по общей выживаемости представлены в виде кривых Каплан-Майера (рисунок 159).

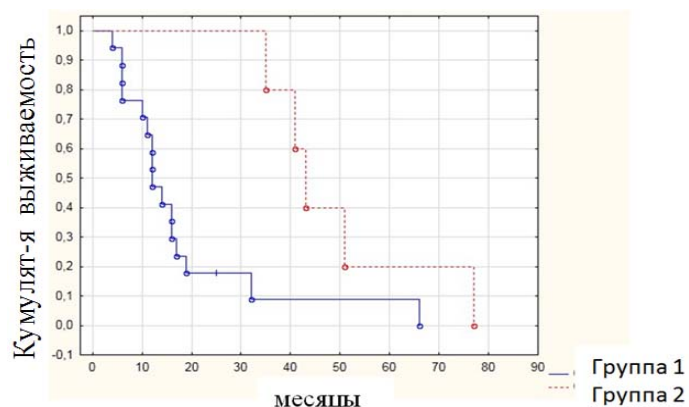


Рисунок 159. – Кривые Каплан-Майера общей выживаемости в группах первичных (группа 1) и вторичных (группа 2) глиобластом при добавлении в схему лечения специфической иммунотерапии и ФДТ

Был произведен корреляционный и регрессионный анализ различных факторов (пол, возраст, количество операций, наличие в схеме лечения темозоламида и дексаметазона, количество курсов иммунотерапии), влияющих на выживаемость пациентов в группе первичных глиобластом. Общая выживаемость пациентов статистически достоверно была положительно ассоциирована с наличием в схеме лечения темозоламида ($\tau_{\text{Кендалл}}=0,47$, $p=0,005$; $B=2,4$, $p=0,006$), и с количеством курсов иммунотерапии ($\rho_{\text{Спирмен}}=0,56$, $p=0,019$; $B=0,2$, $p=0,004$). При этом наличие в схеме лечения дексаметазона было слабо ассоциировано с общей выживаемостью (таблицы 49 и 50).

Таблица 49. – Анализ связи общей выживаемости и различных факторов лечения пациентов с первичными глиобластомами

Фактор	Коэффициент корреляции	p
Пол ¹	0,02	p=0,09
Возраст ²	0,05	p=0,84
Темодал ¹	0,49	p=0,005
Количество курсов иммунотерапия ²	0,56	p=0,019
Прием дексаметазона при иммунотерапии ¹	0,0001	p=1,0

1 – коэффициент ранговой корреляции по Кендаллу (τ). 2 – коэффициент ранговой корреляции по Спирмену (ρ)

Таблица 50. – Анализ влияния факторов на выживаемость в группе пациентов с первичными глиобластомами, которым применялась СИ

Фактор	Бета	Стандартное отклонение	p
Пол	1,07	0,74	0,15
Возраст	0,03	0,03	0,34
Темодал	2,4	0,90	0,006
Количество курсов иммунотерапии	0,2	0,07	0,004
Прием дексаметазона при иммунотерапии	1,11	0,87	0,20

Общее количество курсов СИ в пределах группы первичных глиобластом варьировало от 2 до 22, медиана составила 7 (4; 16). В соответствии с указанным выше распределением проанализировано влияние количества курсов иммунотерапии на общую выживаемость. Выделено две группы: в группе 1 (n=9) количество курсов иммунотерапии меньше или равно 7, в группе 2 (n=8) – 8 и более. Группы оказались сопоставимы по всем сравниваемым параметрам (пол, возраст, количество операций, наличие в схеме лечения лучевой терапии, темозоламида и дексаметазона), статистически достоверных различий в группах выявить не удалось (таблица 51).

Таблица 51. – Характеристика пациентов с первичными глиобластомами в группе 1 (КСИ≤7) и группе 2 (КСИ 8 и >)

Сравниваемые параметры	Группа 1 (n=9) КСИ≤7 Me (Q1;Q) ¹	Группа 2 (n=8) КСИ 8 и > Me (Q1;Q3) ¹	Уровень значимости, p
Пол (мужской/женский) ²	5/4	5/3	0,83
Возраст, лет ³	55 (39; 58)	61,5 (46; 63)	0,17
Количество операций (1/2) ²	3/6	2/6	0,87
Лучевая терапия (есть/нет) ²	7/2	2/6	0,09
Химиотерапия (темодал/другая) ²	4/5	7/1	0,17
Количество курсов иммунотерапии ³	6 (4; 7)	14,5 (8; 16)]	0,0005
Наличие дексаметазона в схеме лечения (есть/нет) ²	6/3	4/4	0,83
Общая выживаемость, месяцы ⁴	10 (6; 12)	16,5 (13; 28,5)	0,01

Примечание: ¹ Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; [Q1;Q3] – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 с поправкой Йетса; ³ U-критерий Манна-Уитни; ⁴ F - критерий Кокса (малый объем выборок)

Медиана общей выживаемости в группе, где количество курсов СИ было 8 и больше составила 16,5 месяцев и оказалась статистически достоверно выше аналогичной в первой группе ($KSI \leq 7$) – 10 месяцев (p_F - критерий Кокса =0,01) (рисунок 160).

Для оценки влияния СИ на МОВ и для оценки вклада фактора СИ в количестве курсов 8 и более в наблюдаемое различие в группах выполнен регрессионный анализ, использован план однофакторного дисперсионного анализа. В данной модели МОВ является зависимой переменной, а проводимая СИ – категориальный предиктор. Получена статистически значимая регрессионная модель, общая пригодность модели $p=0,0001$, коэффициент корреляции 0,4238. Независимый коэффициент $B_0=17,8814$, $p<0,0001$, регрессионный коэффициент для изучаемого предиктора $B_1=-6,2445$, $p=0,0001$. Результаты анализа подтверждают, что наблюдаемые различия имеют связь с данным предиктором, он объясняет наблюдаемые различия на 17%, $p=0,0068$.

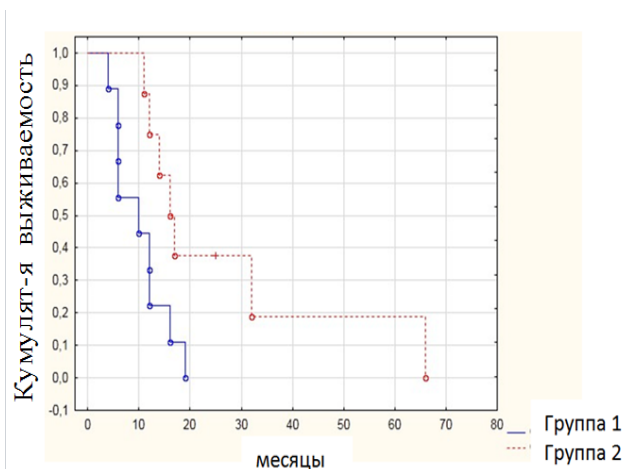


Рисунок 160. – Общая выживаемость в группе 1 ($KSI \leq 7$) и группе 2 ($KSI > 7$)

3 больных с опухолями Grade IV умерли в послеоперационном периоде на фоне проводимой противоопухолевой терапии и стабилизации процесса по данным МРТ от причин, не связанных с опухолью головного мозга (пневмония, тромб эмболия легочной артерии). ОВ у этих больных была соответственно 4, 16 и 17 мес.

Среди больных с опухолями Grade III totally удалось удалить опухоль в 2 случаях, в 1 – субтотально. 1 пациент из этой группы получил ЛТ с дозой СОД в 60 Гр, двое других ЛТ получили после первичной операции, 2 пациентам проводилась химиотерапия: по схеме PCV 1 больной, 1 - темодал. На фоне продолженного роста опухоли и проводимой СИ 2 больных получали дексаметазон. Стабилизация процесса после диагностированного продолженного роста отмечена у 1 больного. В результате проводимого лечения ВП у больных с опухолями Grade III составила 22,67 мес.(диапазон 4-34) мес. МОВ составила 34,33 мес. (диапазон 16-51).

Больные с опухолями Grade II после первой операции получали лечение без применения ФДТ и СИ. При продолженном росте опухоли у больных удалены в обоих случаях субтотально. Больные в послеоперационном периоде не получали ЛТ. В связи с диагностированной сочетанной делецией 1p19q оба больных получили по 6 курсов ПХТ по схеме PCV. У одного больного на фоне противоопухолевой терапии, в том числе и СИ продолженный рост опухоли диагностирован через 6 мес., но на фоне продолжающейся противоопухолевой терапии отмечен ЧО. У второго больного продолженного роста не выявлено, после операции прошло 36 мес. ОВ у больных на 15.12.2015г у больных не достигнута и составляет 96,5 мес. (73 и 120 мес. соответственно).

У больного с анапластической менингиомой отмечено увеличение ВП от 0,75 до 4 мес., при чем, после первой операции продолженный рост опухоли возник на фоне проводимой лучевой терапии. После оперативного вмешательства с ФДТ и проводимой СИ в послеоперационном периоде больной получал также сегидрин. Продолженный рост опухоли возник вне зоны оперативного вмешательства и проведения ФДТ, в контралатеральном полушарии: в правой лобной доле, в основной и гайморовой пазухах.

Двум больным с множественными метастазами опухоль удалена totally. В послеоперационном периоде обоим больным проведено облучение всего головного мозга, проводилась ПХТ по поводу основного заболевания. ОВ у них составила 11,5 мес. (6; 17).

У больной, с метастазами в головной мозг радио и химиорезистентного рака почки, возникли множественные метастазы в головной мозг через 3 мес. после операции. Продолженный рост метастазов возник вне зоны применения ФДТ при первичной операции.

Больная с множественными метастазами в головной мозг рака молочной железы, оперированная с применения ФДТ и получившая СИ, состоящую из 3 курсов по 4 введения умерла на фоне прогрессирующей энцефалопатии, развившейся после облучения всего головного мозга в дозе 45 Гр без продолженного роста опухоли через 17 мес. после операции.

КЖ больных с опухолями Grade IV во второй группе до операции по шкале Карновского составило 64,29 %, ECOG–2,1. Послеоперации КЖ больных с опухолями Grade IV по шкале Карновского составило 69,52 %, ECOG–2,1 балла.

Специфическая иммунотерапия проводилась больным в среднем через 2 недели после оперативного вмешательства и обычно проводилась один раз в 1,5-2 мес. В связи с токсичностью химиотерапии у 3 больных Grade IV промежутки между курсами СИ достигали 3,5 мес. Увеличение ВП у больных опухолями Grade IV и получивших лечение с применением ФДТ и СИ по сравнению с результатами после первых операций, проходящих без ФДТ и СИ отмечена только при условии получении больными 8 и более введений вакцины на основе ДК (не менее 2х курсов по 4 введения). По нашим данным ВП в 9 мес. и более было достигнуто у 7 больных, повторно оперированных по поводу опухолей со степенью анаплазии Grade IV. У этих больных, оперированных с ФДТ и получавших СИ, ВП составила 18,5 мес. (диапазон 9-42).

У 3 больных получавших СИ, отмечалась субфебрильная температура в дни введения вакцины, у 1 больной была незначительная местная аллергическая реакция в виде покраснения, зуда в местах введения вакцины.

У 1 больной, которой в комплекс терапии были добавлены ФДТ и СИ, отмечено уменьшение времени без прогрессирования на 6 мес. Из проводимых дополнительных обследований у этой больной выявлен CMV в опухоли, что по данным ряда авторов, является неблагоприятным прогностическим фактором в

развитии глиобластом (Ghazi A., et al., 2012; Sampson J.H., Mitchell D.A., 2011). Противовирусная терапия больной не проводилась.

Среднее время ФДТ у больных с опухолями Grade IV составило 12 (6; 35) мин. Среднее время ФДТ у больных с опухолями Grade III составило 10 (12; 24) мин.

Наши предварительные результаты показывают отсутствие каких-либо серьезных осложнений и подтверждают безопасность применения метода СИ при лечении больных ЗОГМ.

Таким образом, добавление к комплексу терапии интраоперационной ФДТ и СИ в послеоперационном периоде с количеством курсов 8 и более больным первичными опухолями Grade IV приводит к увеличению ВП и МОВ по сравнению с результатами после первых операций, проходящих без ФДТ и СИ. Наличие в схеме лечения дексаметазона было слабо ассоциировано с общей выживаемостью при проведении СИ у пациентов в группе первичных глиобластом.

У больных с опухолями Grade III и II, получивших лечение с применением ФДТ и СИ по сравнению с результатами терапии, без ФДТ и СИ по нашим данным, не отмечено увеличения ВП и МОВ. Однако в этой группе результаты основаны на небольшом количестве исследований и МОВ у большинства больных на момент завершения выборки не достигнута.

5.4 Адьювантная терапия злокачественных опухолей головного мозга

Одним из важных компонентов комбинированного лечения злокачественных новообразований, в том числе в нейроонкологии, является лучевая терапия и ХТ. Долгое время считалось, что химиотерапия в лечении ЗОГМ не эффективна. Вследствие этого, и лечение нейроонкологическим больным в послеоперационном периоде проводилось соответственно отношения онкологов к адьювантному лечению ЗОГМ. По нашим данным, за период с 2000 по 2015 гг. менялась лечебная тактика и отмечена постепенная тенденция к увеличению количества больных, получавших необходимое лечение. Нами

выделено 3 условных периода: 2000-2004, 2005-2009, 2010-2015 гг. по применению адъювантной терапии в лечении больных ЗОГМ

Соответственно проводимой терапии увеличивалась и продолжительность жизни больных согласно выделенных нами периодов. Так, при терапии самых сложных для лечения больных с опухолями со степенью анаплазии Grade IV отмечено увеличение МОВ (таблица 52).

Таблица 52. – Динамика изменений лечебной тактики в отношении адъювантной терапии больным ЗОГМ с 2000 по 2015гг.

Лечение	Период времени (годы)		
	2000-2004 n 169	2005-2009 n 167	2010-2015 n 67
Радиотерапия	34 (20,11%)	51 (30,53%)	31(46,27%)
Химиотерапия	26 (15,38%)	32(19,16%)	36 (53,73%)
ЛТ+ХТ	9 (5,33%)	30 (17,96%)	29 (43,28%)
Иммунотерапия специфическая/ неспеци-фическая	1/8 (5,33%)	2/10 (7,19%)	27/20 (40,30%)
Не получавших противоопухо- левую терапию	91 (53,85%)	42 (25,15%)	6 (8,95%)

При анализе результатов лечения первичных опухолей со степенью анаплазии Grade IV отмечено увеличение МОВ согласно выделенным нами периодам (таблица 53).

Следует отметить, что за периоды 2000-2004 гг. и 2004-2009 гг. живых больных на момент завершения сбора катамнеза нет. За период 2010-2015 гг. – 2 (5,6 %) больных живы.

Таблица 53.– Лечебная тактика и выживаемость пациентов с первичными глиобластомами (Grade IV) в 2000-2015 гг.

Сравниваемые параметры	Группа 1 2000-2004 (n=55) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 2 2005-2009 (n=72) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 3 2010-2015 (n=36) Me (Q1;Q3) ¹	p
Пол, (мужской/женский) ²	21/34	37/35	17/19	>0.05 p ₁₂ =0,1387 p ₁₃ =0,3925 p ₂₃ =0,6831
Возраст, лет ³	50 (38;56)	55 (45;59,5)	56 (51;61)	0,0237
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	0/55	0/72	28/8	p₁₃<0,0001 p₂₃<0,0001
Только лучевая терапия, есть/нет ²	3/52	10/62	3/32	>0.05 p ₁₂ =0,1203 p ₁₃ =0,5633 p ₂₃ =0,4296
Только химиотерапия, есть/нет ²	7/48	10/62	1/34	>0.05 p ₁₂ =0,8489 p ₁₃ =0,1087 p ₂₃ =0,0779
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	3/52	7/65	13/23	>0.05 p ₁₂ =0,3763 p ₁₃ =0,0002 p ₂₃ =0,0009
Только химиотерапия темодалом, есть/нет ²	0/55	3/69	2/34	>0.05 p ₁₂ <0,0001 p ₁₃ <0,0001 p ₂₃ =0,7461
Специфическая иммунотерапия, есть/нет ²	0/55	0/72	17/19	p₁₃<0,0001 p₂₃<0,0001
Комплексное лечение, есть/нет ²	7/48	18/55	24/12	>0.05 p ₁₂ =0,0919 p ₁₃ <0,0001 p ₂₃ <0,0001
МОВ, мес ³	6 (4;12)	8 (1,1; 115)	12 (2; 66)	0,0110

Примечание: ¹ Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 . ³ критерий Крускала-Воллиса. ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия).ЛТ+ХТ+ИТ; СИ+НИ – 7 (7,95%) пациентов.

Медиана общей выживаемости 163 больных первичными опухолями Grade IV составила 9 (5; 14) мес. При анализе лечения 75 больных, которым не проводилась адъювантная терапия, выявлено, что МОВ у них составила 5,73

(1;56) мес. У 88 больных, которым в послеоперационном периоде проводилось лечение МОВ составила 15,3 (4; 115) мес. Из них только химиотерапию получало 18 (20,45%), только ЛТ – 17 (19,32%), комплексную ЛТ+ХТ получали 34 (38,64%) больных, ХТ+СИ получали 7 (7,95%), другую комбинированную терапию, включающую ИТ: ЛТ + ИТ

Зависимость выживаемости от методов лечения представлены на рисунке 161.

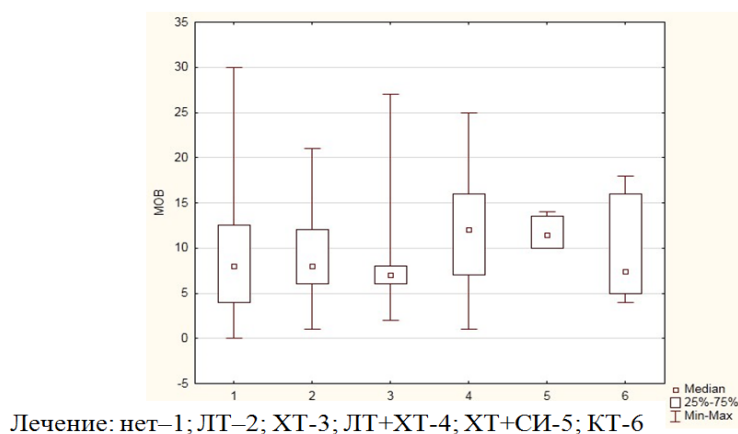


Рисунок 161.– Зависимость выживаемости больных первичными опухолями Grade IV от методов лечения

По нашим данным, добавление к хирургическому лечению адъювантных методов терапии увеличивает выживаемость больных, но достоверной разницы между используемыми в послеоперационном периоде методами лечения и выживаемостью нами не получено, за исключением СИ и ФДТ.

МОВ 32 больных вторичными опухолями Grade IV составила 41 (4; 62) мес. При анализе лечения 5 больных, которым не проводилась адъювантная терапия, выявлено, что МОВ у них составила 41 (4; 133) мес. У 27 больных, которым в послеоперационном периоде проводилось лечение МОВ, составила 41,5 (20; 73) мес. Из них только химиотерапию получало 9 (33,33%), только ЛТ 2 (7,4%), ЛТ+ХТ получали 10 (37,04%) больных, ХТ+СИ получил 1 (3,7%), другую комбинированную терапию, включающую ИТ: ЛТ+ИТ; ЛТ+ХТ+ИТ; СИ+ИТ – 5 (18,52%) пациентов. Зависимость выживаемости от методов лечения представлены в таблице 54.

Анализируя результаты лечения больных вторичными опухолями Grade IV по периодам, следует отметить, что за период 2000-2004 гг. живых больных на

момент завершения сбора катамнеза нет. За период 2004-2009 гг. - 1 (9,1%) больной жив. За период 2010-2015 гг. – 2 (20 %) больных живы.

Таблица 54.– Лечебная тактика и выживаемость пациентов с вторичными глиобластомами в 2000-2015 гг.

Сравниваемые параметры	Группа 1 2000-2004 (n=11) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 2 2005-2009 (n=11) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 3 2010-2015 (n=10) Me (Q1;Q3) ¹	p
Пол, (мужской/женский) ²	6/5	5/6	6/4	>0.05 p ₁₂ =0,6698 p ₁₃ =0,8008 p ₂₃ =0,6699
Возраст, лет ³	39 (33;42)	39,5 (28;51,5)	44 (40;52)	0,0729
Интраоперационное ФДТ и СИ, есть/нет ⁴	0/11	0/11	10/0	p₁₃<0,0001 p₂₃<0,0001
Только лучевая терапия, есть/нет	2/9	нет	нет	
Только химиотерапия, есть/нет ²	2/9	3/8	0/10	>0.05 p ₁₂ =0,6109 p ₁₃ =0,4762 p ₂₃ =0,2143
Химиотерапия темодалом, есть/нет ⁴	1/10	6/5	7/3	>0.05 p ₁₂ =0,0221 p ₁₃ =0,0041 p ₂₃ =0,4664
Комплексное лечение, есть/нет ²	3/18	6/5	7/3	>0.05 p ₁₂ =0,0116 p ₁₃ =0,0019 p ₂₃ =0,4664
МОВ, мес ³	41 (4; 84)	42 (4; 133)	41 (14; 77)	0,9131

Примечание: ¹ Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го процентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 ; ³ критерий Крускала-Воллиса; ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия).

Медиана общей выживаемости 75 больных опухолями Grade III составила 37,5 (2; 256) мес. При анализе лечения 30 больных, которым не проводилась адъювантная терапия, выявлено, что МОВ у них составила 30,5 (2; 156) мес. У 45 больных, которым в послеоперационном периоде проводилось лечение МОВ, составила 38,9 (4; 256). Из них только химиотерапию получало 4 (8,89%), только

ЛТ – 9 (20%), ЛТ+ХТ получали 21 (46,67%) больных, ХТ+СИ получали 5 (11,11%), другую комбинированную терапию, включающую ИТ: ЛТ+ИТ; ЛТ+ХТ+ИТ; СИ+НИ – 6 (13,33%) пациентов. Зависимость выживаемости от методов лечения представлены в таблице 55.

Таблица 55. – Лечебная тактика и выживаемость пациентов со злокачественными астроцитомами (Grade III) в 2000-2015 гг.

Сравниваемые параметры	Группа 1 2000-2004 (n=26) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 2 2005-2009 (n=39) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 3 2010-2015 (n=12) Me (Q1;Q3) ¹	p
Пол, (мужской/женский) ²	14/12	19/20	4/8	>0.05 p ₁₂ =0,5026 p ₁₃ =0,1966 p ₂₃ =0,3932
Возраст, лет ³	43,5 (36;49)	43 (32;52)	38,5 (31,5;52,5)	0,7924
Интраоперационное ФДТ и СИ, есть/нет ⁴	0/26	2/37	9/3	>0.05 p ₁₂ =0,2437 p₁₃<0,0001 p₂₃<0,0001
Лучевая терапия, есть/нет ²	9/18	17/22	7/5	>0.05 p ₁₂ =0,0926 p ₁₃ =0,5853 p ₂₃ =0,4060
Химиотерапия, есть/нет ²	5/21	11/28	7/5	>0.05 p ₁₂ =0,3500 p ₁₃ =0,0016 p ₂₃ =0,0081
Комплексное лечение, есть/нет ²	7/19	15/24	5/7	>0.05 p ₁₂ =0,5026 p ₁₃ =0,1966 p ₂₃ =0,3932
МОВ, мес ³	41,5 (12;62)	40 (15;117)	39 (16;43)	0,7924

Примечание : ¹ Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 ; ³ критерий Крускала-Воллиса; ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия).

При анализе результатов лечения больных опухолями Grade III по периодам следует отметить, что за период 2000-2004 гг. на момент завершения сбора катамнеза 1 (4%) больная жива. За период 2004-2009 гг. - 11 (28,9%) больных живы. За период 2010-2015 гг. – 6 (50 %) больных живы. Поскольку многие из этих пациентов не достигли медианы выживаемости, данные анализа лечения по периодам в этой группе не показателен. Однако, учитывая процент больных, не достигших на момент завершения сбора катамнеза медианы выживаемости по периодам, следует, что проведение противоопухолевого лечения увеличивает продолжительность жизни больных, что подтверждается МОВ всех не леченных и леченных больных этой группы.

Проведя анализ результатов лечения 48 больных с глиомами Grade I-II выявлено, что МОВ составила 85,9 (2,5; 155) мес. При анализе лечения 22 (45,83%) больных, которым не проводилась адъювантная терапия, выявлено, что МОВ у них составила 45,5 (2,5; 151) мес. У 26 (54,17 %) больных, которым в послеоперационном периоде проводилось лечение МОВ составила 121 (16; 155) мес. Из них только химиотерапию и только лучевую терапию получало по 8 (30,77%) больных, комбинированную терапию, включающую ЛТ+ХТ или ХТ+СИ или ХТ+НИ – 10 (38,46%) пациентов. Зависимость выживаемости от методов лечения представлены в таблице 56.

Таблица 56. - Лечебная тактика и выживаемость пациентов с доброкачественными астроцитомами (Grade I-II) в 2000-2015 гг.

Сравниваемые параметры	Группа 1 2000-2004 (n=26)	Группа 2 2005-2009 (n=16)	Группа 3 2010-2015 (n=6)	p
------------------------	---------------------------------	---------------------------------	--------------------------------	---

	Me (Q1;Q3) ¹	Me (Q1;Q3) ¹	Me (Q1;Q3) ¹	
Пол, (мужской/женский) ²	19/13	6/11	5/1	>0.05 p ₁₂ =0,1085 p ₁₃ =0,2642 p ₂₃ =0,0429
Возраст, лет ³	43,5 (36;49)	43 (32;52)	38,5 (31,5;52,5)	0,2596
Интраоперационное ФДТ и СИ, есть/нет ⁴	0/26	0/16	5/1	p₁₃<0,0001 p₂₃<0,0001
Только лучевая терапия, есть/нет ⁴	5/21	2/12	1/5	>0.05 p ₁₂ =0,5698 p ₁₃ =0,8847 p ₂₃ =0,7998
Только химиотерапия, есть/нет ⁴	5/20	2/15	1/5	>0.05 p ₁₂ =0,4535 p ₁₃ =0,6896 p ₂₃ =1
Комплексное лечение, есть/нет ⁴	4/22	4/14	2/4	>0.05 p ₁₂ =0,5632 p ₁₃ =0,3100 p ₂₃ =0,5862
МОВ, мес ³	114 (4,1; 155)	69 (2,5; 128)	36 (32; 46)	0,0508 p ₁₂ =0,0753 p ₁₃ =0,3138 p ₂₃ =0,4871

Примечание: ¹ Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² критерий χ^2 ; ³ критерий Крускала-Воллиса; ⁴ критерий χ^2 (возможна неустойчивость критерия).

Таким образом, анализируя результаты лечения больных ЗОГМ за период 2000-20015 гг., выявлено увеличение процента больных, получающих адъювантную терапию. При этом отмечается увеличение выживаемости больных первичными опухолями Grade IV. Однако статистической достоверности не выявлено. Достоверная разница по выживаемости выявлена при дополнении комплекса противоопухолевой терапии СИ, ФДТ. При вторичных опухолях Grade IV и Grade III увеличения выживаемости по периодам не выявлено.

Кроме того, при проведении ХТ отмечается тенденция к увеличению применяемости темодала за последние пять лет в исследуемых периодах времени.

Вместе с тем, достоверная разница по применению темодала, ФДТ и СИ при лечении вторичных опухолей Grade IV и Grade III не оказала влияния на МОВ.

Анализируя результаты лечения больных опухолями Grade I-II по периодам, следует отметить, что за период 2000-2004 гг. на момент завершения сбора катамнеза 10 (30,46%) больных живы. За период 2004-2009 гг. - 6 (37,5%) больных живы. За период 2010-2015 гг. - все 100% больных живы. Поскольку многие из этих пациентов не достигли медианы выживаемости, данные анализа лечения по периодам не показательны. Кроме того, достоверной разницы по применению методов противоопухолевой терапии больным опухолями Grade I-II за указанные периоды не отмечается.

5.5 Лечебно-диагностическая тактика в послеоперационном периоде

Даже после выполнения максимально радикальных операций и проведения в послеоперационном периоде комплексной противоопухолевой терапии смерть абсолютного большинства пациентов наступает от продолженного роста опухолей (таблица 57).

Таблица 57. – Причины смерти больных, оперированных по поводу ЗОГМ

Степень анаплазии	Причины смерти	
	Продолженный рост опухоли	Другие причины
IV	193	6
I-III	120	12

Из 313 больных с известным катамнезом и с опухолями Grade IV и Grade I-III только 18 (5,75%) больных умерли не от продолженного роста опухолей. Причинами смерти в 6 случаях явилось острое нарушение мозгового кровообращения; в 4 – сердечно-сосудистая патология (тромбэмболия легочной артерии, инфаркт миокарда); по 2 случая суицид, тромбоцитопения, ЧМТ; по 1 случаю – рак молочной железы и гангрена нижних конечностей. Поэтому

совершенствование подходов к лечению этой сложной патологии по-прежнему актуально.

Существенную помощь практическим врачам в лечении ЗОГМ оказывают разработанные Ассоциацией нейрохирургов России «Стандарты, опции и рекомендации в лечении первичных опухолей ЦНС» (2012), которые утверждены приказом МЗ РФ № 3 от 21.01.2013 г. «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при новообразованиях головного мозга и мозговых оболочек».

Согласно существующим стандартам после операции больному с опухолью Grade III-IV показано выполнение лучевой терапии, которая обычно начинается через 2-4 нед. после операции, затем через 4-6 нед. проводится химиотерапия темозоламидом 1 раз в месяц 6-10 курсов. В последующем на протяжении 1 года выполняется МРТ с частотой 1 раз в 2-3 мес., затем, при отсутствии симптомов 1 раз в 6 мес.

При отсутствии прогностически неблагоприятных факторов стандартного подхода к лечению глиом Grade I-II нет. В послеоперационном периоде рассматривается возможность проведения ЛТ с последующим назначением химиотерапии при наличии олигодендроглиального компонента. Затем с периодичностью 3-6 мес. проводится МРТ на протяжении 5 лет.

Однако нередко еще до начала проведения противоопухолевой терапии отмечается ранний продолженный рост опухолей. Так, по нашим данным, при анализе лечения 193 больных опухолями Grade IV ранний, до 1 мес., продолженный рост был у 21 (10,89%) больного, до 2 мес., был у 33 (17,1%), до 3 мес., был у 54 (28,0%) больных.

Короткие сроки безрецидивной выживаемости при опухолях Grade IV, отсутствие надежных методов диагностики продолженного роста опухоли на раннем этапе и оценки эффективности проводимой противоопухолевой терапии, свидетельствует о необходимости дальнейшего совершенствования существующих подходов к лечению.

С целью ранней диагностики продолженного роста ЗОГМ и оценки эффективности проводимой химиотерапии в послеоперационном периоде мы использовали ИКС сыворотки крови больных в динамике. Диагностика раннего продолженного роста ЗОГМ проводилась по методике, описанной в 3 главе в п. 3.1.3. Диагностика продолженного роста опухолей Grade IV в раннем послеоперационном периоде проводилась по методике, описанной в п.3.1.4.

Мы сравнили МОВ у 2 групп больных первичными глиобластомами с ранним, (до 1 мес.) продолженным ростом, у которых в послеоперационном периоде по данным ИКС отмечалась опухоль Grade IV, что прогнозировало продолженный рост опухоли в раннем послеоперационном периоде. В первой группе (5 больных), лечение которых проводилось в обычные сроки, без учета данных ИКС и вторая группа (6 больных) которым по результатам ИКС назначалась ранняя противоопухолевая терапия. МОВ составила соответственно 4 (2,25;7,5) мес., во втором - 11,8 (4;17) мес. (рисунок 162) $p=0,09$.

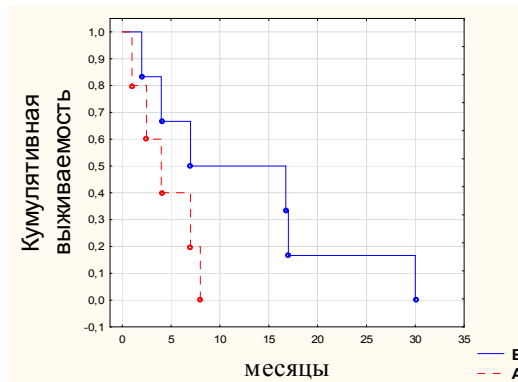


Рисунок 162. – Медиана общей выживаемости больных первичными глиобластомами: А – лечение которых проводилось в обычные сроки; Б – лечение которым назначалось в раннем послеоперационном периоде с учетом данных ИКС

В данном исследовании отмечается тенденция к статистической значимости, но достоверных различий мы не получили. Это может быть обусловлено небольшой выборкой. Что в свою очередь связано с тем, что продолженный рост в раннем послеоперационном периоде встречается не часто - 10,9% по нашим данным. Тем не менее, получен клинически значимый

эффект по увеличению МОВ больных опухолями Grade IV при раннем назначении противоопухолевой терапии.

В данном исследовании сравнивались две группы больных Grade IV с продолженным ростом в раннем послеоперационном периоде. Первая (2000-2005 гг.) – лечение проводилось в обычные сроки после выполнения оперативного лечения. Вторая (2006-2015 гг.) – лечение начиналось с учетом результатов ИКС в раннем послеоперационном периоде. Группы были сравнимы по основным параметрам (таблица 58).

Таблица 58. – Лечебная тактика и выживаемость пациентов с первичными глиобластомами (Grade IV) в 2000-2015 гг.

Сравниваемые параметры	Группа 1 2000-2005 (n=5) Me (Q1;Q3) ¹	Группа 2 2006-2015 (n=7) Me (Q1;Q3) ¹	p
Пол, (мужской/женский) ²	3/2	3/3	0,6; 0,78
Возраст, лет ³	50 (38;56)	55 (45;59,5)	0,64
Интраоперационное ФДТ, есть/нет ²	0/5	2/4	0,27; 0,52
Только лучевая терапия, есть/нет ²	2/3	5/1	0,19; 0,39
Только химиотерапия, есть/нет ²	1/4	4/2	0,17; 0,34
Химиотерапия темодалом, есть/нет ²	1/4	2/4	0,57; 0,85
Количество операций, 1/2/3 ⁴	3/2/0	4/1/1	0,49
Объем удаления, тотально/субтотально/частично ⁴	2/2/1	2/4/0	0,45
Комплексное лечение, есть/нет ²	3/2	4/2	0,65; 0,68
Общая продолжительность жизни, мес ⁵	4 (2,25;7,5)	11,8 (4;17)	0,09

Примечание: ¹ - Мемедиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q2) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² – точный критерий Фишера и критерий χ^2 с поправкой Йетса. ³ – U-критерий Манна-Уитни; ⁴ - критерий χ^2 . ⁵ – F - критерий Кокса (малый объем выборок).

При анализе катамнеза 75 больных первичным опухолями Grade IV, которым не проводилась противоопухолевая терапия, ВП составило 3,4 (0,5; 14,5)

мес. Ранний, до 1 мес. продолженный рост был выявлен у 8 (10,67%), до 2 мес., был у 11 (14,67%), до 3 мес. у 15 (20%) больных. ВП выше 6 мес. было у 7 (9,33%) больных. Продолжительность жизни в группе больных превысила 12 мес. у 8 (10,67%) больных. Выживаемость более 2 лет была у 2 (2,67%) больных. МОВ в этой группе больных составила 5,73 [1;56] мес. (рисунок 163).

При анализе результатов лечения 70 больных первичным опухолями Grade IV, которым в послеоперационном периоде проводилась противоопухолевая терапия, без учета данных ИКС, ВП составило 4 (0,5; 17,5) мес. (таблица 58). Ранний, до 1 мес. продолженный рост был выявлен у 8 (11,43%), до 2 мес., был у 13 (18,57%), до 3 мес. у 3 (4,29%) больных. ВП выше 6 мес. было у 36 (35,43%) больного. Продолжительность жизни у этой группы больных превысила 12мес. у 17 (24,29%) больных. Выживаемость более 2 лет была у 3 (2,86%) больных. МОВ в этой группе больных составила 10,9 (2; 32,1) мес. (рисунок 163). При анализе результатов лечения 20 больных первичным опухолями Grade IV, терапия которым проводилась с использованием ИКС ВП составило 6 [0,5; 96] мес. (таблица 58). Ранний до 1 мес., продолженный рост был выявлен у 2 (10%), до 2 мес., был у 2 (10%) до 3 мес. у 5 (25%) больных. ВП выше 6 мес. было у 9 (45%) больного. Продолжительность жизни у этой группы больных превысила 12 мес. у 11 (55%) больных. Выживаемость более 2 лет была у 5 (25%) больных. МОВ в этой группе больных составила 15,3 (4; 115) мес. (рисунок 163).

$$p=0,001$$

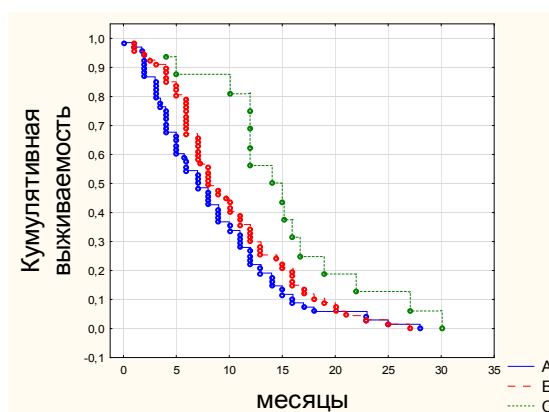


Рисунок 163. – Кривые Каплан-Мейера общей выживаемости больных с первичными опухолями Grade IV в зависимости от лечения. А – без противоопухолевой терапии. Б – при лечении без применения ИКС. С – при лечении с учетом данных ИКС в динамике

Для оценки влияния ИКС на МОВ и для оценки вклада фактора ИКС в наблюдаемое различие между больными с первичными опухолями Grade IV, леченными обычным подходом и при использовании результатов ИКС выполнен регрессионный анализ, использован план однофакторного дисперсионного анализа. В данной модели ПЖ является зависимой переменной, а проводимая ИКС – категориальный предиктор. Получена статистически значимая регрессионная модель, общая пригодность модели $p < 0,0001$, коэффициент корреляции 0,4340. Независимый коэффициент $B_0 = 16,372$, $p < 0,0001$, регрессионный коэффициент для изучаемого предиктора $B_1 = -8,446$, $p < 0,0001$. Результаты анализа подтверждают, что наблюдаемые различия имеют связь с данным предиктором, он объясняет наблюдаемые различия на 17%.

При анализе лечения 32 больных вторичными опухолями Grade IV, адъювантная терапия которым проводилась без использования ИКС, ВП составило 24 (3; 96) мес., с ранним продолженным ростом, до 1 мес. было 2 (2,22%), до 6 мес., было 16 (17,78%) больных. Двухлетняя выживаемость была у 59 (65,56%), трехлетняя у 47 (52,22%), пятилетняя – у 26 (28,89%), десятилетняя у 10 (11,11%) больных. МОВ в этой группе больных составила 41,5 (20; 73) мес.

При анализе результатов лечения 8 больных вторичными опухолями Grade IV, адъювантная терапия которым проводилась с использованием ИКС, ВП составило 33 (6; 48) мес., с ранним продолженным ростом, до 1 мес. больных не было, до 6 мес., был 1 (5,88%) больной. Двухлетняя выживаемость была у 14 (82,35%), трехлетняя выживаемость была у 10 (58,82%), пятилетняя – у 5 (29,41%) больных. МОВ в этой группе больных составила 42 (40; 52) мес.

В группе вторичных глиобластом не выявлено связи между изучаемым предиктором (ИКС) и продолжительностью жизни. Общая пригодность модели $P = 0,9728$, $r = 0,0033$. Независимый коэффициент $B_0 = 47,7590196078431$, $p < 0,0001$, регрессионный коэффициент для изучаемого предиктора $B_1 = 5,68546990967897$, $p = 0,9728$.

При анализе результатов лечения 24 больных опухолями Grade III, адъювантная терапия которым не проводилась, ВП составило 16,5 (11; 66) мес

мес., с ранним продолженным ростом, до 1 мес. было 2 (8,33%), до 6 мес., был 1 (4,17%) больных. Двухлетняя выживаемость была у 1 (4,17%), трехлетняя у 5 (20,83%), пятилетняя – у 3 (12,5%). МОВ в этой группе больных составила 30,5 (2; 156) мес.

При анализе результатов лечения 28 больных опухолями Grade III, адъювантная терапия которым проводилась без использования ИКС, ВП составило 22,5 (0,75;120) мес., с ранним продолженным ростом, до 1мес. был 1 (3,57%) больной, до 6 мес., было 6 (21,43%) больных. Двухлетняя выживаемость была у 1 (3,57%), трехлетняя у 7 (25%), пятилетняя – у 9 (32,14%) больных. МОВ в этой группе больных составила 38,9 (4;256) мес.

При анализе результатов лечения 9 больных опухолями Grade III, адъювантная терапия которым проводилась с использованием ИКС, ВП составило 36 (4; 93) мес., с ранним продолженным ростом, до 1мес. больных не было, до 6 мес., был 1 (5,88%) больной. Двухлетняя выживаемость была у 3 (33,3%), трехлетняя выживаемость была у 1 (11,1%), пятилетняя – у 2 (22,2%) больных. МОВ в этой группе больных составила 50 (14,6; 127) мес.

При анализе катамнеза 26 больных опухолями Grade I - II, терапия которым не проводилась, ВП составило 44,88 (4; 155) мес., с продолженным ростом опухолей до 6 мес. было 2(5%) больных. Двухлетняя выживаемость была у 2 (7,69%), трехлетняя – у 2 (7,69%), пятилетняя – у 9 (34,62%), десятилетняя у 2 (7,69%) больных. МОВ в этой группе больных составила 45,5 (2,5; 151) мес. В этой группе 8 (30,77%) больных на момент завершения сбора катамнеза живы. В этой группе 8 (30,77%) больных на момент завершения сбора катамнеза живы.

При анализе катамнеза 20 больных опухолями Grade II, терапия которым проводилась без учета данных ИКС, ВП составило 12 (2; 115) мес., с продолженным ростом опухолей до 6 мес. был 1 больной (5%) больных. Двухлетняя выживаемость была у 2 (10%), трехлетняя – у 1 (5%), пятилетняя – у 3 (15%), десятилетняя у 9 (45%) больных. МОВ в этой группе больных составила 68,5 (4; 256) мес. В этой группе 9 (45%) больных на момент завершения сбора катамнеза живы.

При анализе результатов лечения 6 больных опухолями Grade II, терапия которым проводилась с учетом данных ИКС, ВП составило 85,8 (4-155) мес.. С

ранним продолженным ростом больных не было. Пятилетняя выживаемость была у 2 больных и 10 летняя у 4 больных. МОВ в этой группе составила 120,5 (48; 155) мес. В этой группе 4 (66,67%) больных на момент завершения сбора катамнеза живы.

Сводные данные по выживаемости больных ЗОГМ в зависимости от лечения представлены в таблицах 59, 60.

Таблица 59. – Зависимость медианы времени без прогрессирования больных опухолями Grade IV, III и I-II от лечения

Grade	Лечение				
	Обычное лечение		Лечение с использованием данных ИКС		p ²
	Месяцы ¹	n	Месяцы ¹	n	
IV Первичные	4 (0,5;17,5)	70	6 (0,5; 96)	20	0,0024
IV Вторичные	24 (3; 96)	32	33 (6; 48)	8	0,6674
III	22,5 (5; 60)	26	36 (4; 93)	9	0,3267
I и II	12 (2; 115)	20	85,8 (4-155)	6	0,9047

Примечание: ¹ Ме – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² F-тест Кокса

Таблица 60. – Зависимость медианы общей выживаемости больных опухолями Grade IV, III и I-II от лечения

Grade	Лечение				
	Обычное лечение		Лечение с учетом данных ИКС		p ²
	Месяцы ¹	n	Месяцы ¹	n	
IV первич-ные	10,9(2; 32,1	70	15,3 (4; 115)	20	0,0083
IV вторич-ные	41,5 (20; 73)	32	42 (40; 52)	8	0,8617
III	38,9 (4;256)	28	50 (14,6;127)	9	0,4218
II	68,5 (4; 256)	20	120,5 (48; 155)	6	0,2954

Примечание: ¹ Ме – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; (Q1;Q3) – значения 25-го и 75-го перцентилей распределения, между которыми расположены 50% значений признака в выборке; ² F-тест Кокса

Зависимость медианы общей выживаемости больных опухолями Grade IV, III и I-II от лечения представлена на рисунке 164.

$$p=0,01$$

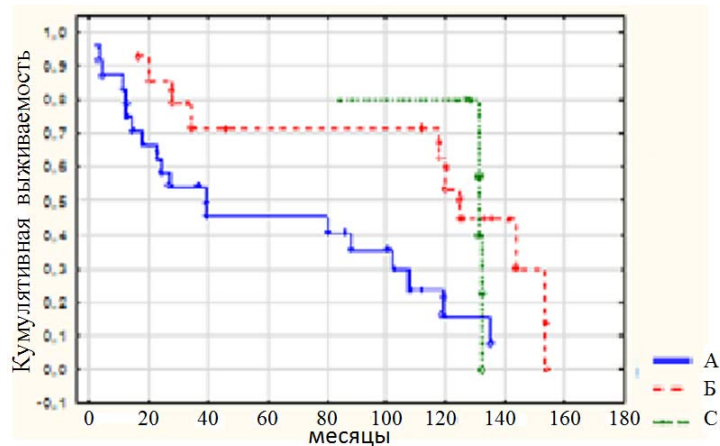


Рисунок 164.– Кривые Каплан-Мейера общей выживаемости больных с первичными опухолями Grade II в зависимости от лечения. Синяя линия – без противоопухолевой терапии. Красная линия - лечение без учета данных ИКС. Зеленая линия – лечение с учетом данных ИКС в динамике

Для оценки влияния ИКС на МОВ и для оценки вклада фактора ИКС в наблюдаемое различие в группе опухолей Grade II, леченных обычным подходом и с использованием данных ИКС выполнен регрессионный анализ, использован план однофакторного дисперсионного анализа. В данной модели продолжительность жизни является зависимой переменной, а проводимая ИКС – категориальный предиктор. Получена статистически значимая регрессионная модель, общая пригодность модели $p=0,0453$, коэффициент корреляции $0,30697$. Независимый коэффициент $B_0=96,138$, $p<0,0001$, регрессионный коэффициент для изучаемого предиктора $B_1=-26,837$, $p=0,0453$. Результаты анализа подтверждают, что наблюдаемые различия имеют связь с данным предиктором, он объясняет наблюдаемые различия на 9%.

При сравнении МОВ двух групп больных опухолями Grade II, которые получали терапию согласно стандартам и лечение которых корректировалось с учетом результатов ИКС мы не получили достоверных результатов (таблица 58), но при этом важно отметить, что на момент завершения сбора катамнеза количество выживших больных в группе, лечение которых проводилось с учетом

ИКС превышает на 21,67 % группу, где лечение проводилось стандартно. С учетом превышения МОВ по сравнению с контрольной группой практически в два раза и сравнения количества выживших больных в группах, фактор ИКС имеет клиническую значимость при лечении больных с опухолями Grade II.

Результаты исследования свидетельствуют об эффективности использования данных ИКС сыворотки крови при лечении больных ЗОГМ. Наши данные показывают, что при первичных опухолях Grade IV, коррекция терапии по результатам ИКС позволяет увеличить МОВ больных, по сравнению с проводимым обычным лечением. У больных с опухолями Grade II увеличивается МОВ по сравнению с группой больных, которым не проводилась противоопухолевая терапия. При опухолях Grade IV увеличилось количество больных с ВП более 6 месяцев и уменьшилось количество больных с выживаемостью менее 12 мес. Достоверного увеличения МОВ при вторичных опухолях Grade IV и III нами не выявлено. У больных первичными опухолями Grade IV увеличивается количество больных с выживаемостью больше 12 мес. при использовании в терапии метода ИКС. Кроме того, у больных опухолями Grade II, при условии достижения максимальной МОВ, по сравнению с группами, где не проводилось лечение или проводилось по обычной методике, количество пациентов, продолжающих терапию на момент завершения сбора катамнеза, также максимально и составляет 66,67%.

Проведенный регрессионный анализ подтвердил возможность применения ИКС как прогностического фактора эффективно определяющего показания к проведению противоопухолевого лечения у больных первичными опухолями Grade IV и больных опухолями Grade II.

Применение ИКС обеспечивает индивидуализацию лечения. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дополнения применяемых в настоящее время стандартов по лечению больных ЗОГМ, индивидуальным подходом к лечению. Одним из основных определяющих факторов в алгоритме лечебно-диагностических мероприятий в послеоперационном периоде является

степень анаплазии опухоли. На этом основана предлагаемая нами концепция послеоперационного лечения и наблюдения за больными ЗОГМ.

В настоящее время представления о прогностической значимости объема резекции опухолевой ткани основываются на наличии остаточного субстрата в послеоперационном периоде при МРТ контроле с контрастным усилением, выполненном на протяжении 72 ч после операции (Ахадов Т.А., 2003; Терновой С.К. с соавт., 2004; Negendank W.G. et al., 1996; Jackson A. et al., 2002; Vassilyadi M. et al., 2009). Однако это исследование не дает информации о предполагаемом продолженном росте опухоли. Применение методики ИКС позволяет прогнозировать на раннем этапе продолженный рост опухоли и определить показания к обоснованному проведению противоопухолевой терапии, позволяет оценить наличие или отсутствие эффекта от лечения.

В практику оценки качества жизни онкологических больных введено понятие Q-TWiST (Extended Quality-Adjusted Time Without Symptoms and Toxicity). Q-TWiST – период времени, в течение которого онкологический больной не только не имеет симптомов заболевания, но и свободен от симптомов интоксикации, связанной с проведением противоопухолевой химиотерапии. Использование данных ИКС при лечении больных ЗОГМ позволяет избежать необоснованного проведения химиотерапии, при наличии положительного эффекта – снизить сроки ее проведения.

Важным фактором в лечении больных ЗОГМ является организация контроля и наблюдения за пациентами в послеоперационном периоде. Для практической реализации предлагаемого метода необходимо четкое взаимодействие оперирующего нейрохирурга, онколога, наблюдающего за больным в послеоперационном периоде, химиотерапевта или радиолога, проводящего лечение и лаборатории, выполняющей ИКС исследование, основанное на результатах обследования больных в безрецидивном периоде.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании мы разработали систему дифференцированного подхода к лечению злокачественных опухолей головного мозга. Нами предложены новые методики диагностики и лечения этой патологии в зависимости от течения и динамики опухолевого процесса, усовершенствованы некоторые методы хирургического вмешательства.

Исследование клиничко-экспериментальное. Выполнено 45 экспериментов *in vitro* и 63 эксперимента на животных с целью повышения эффективности химиотерапии злокачественных опухолей головного мозга. Клиническая часть работы основана на тщательном анализе 432 наблюдений за больными ОГМ, которым выполнено 362 оперативных вмешательства с участием автора. Используются современные методы статистической обработки материала.

Результаты лечения любой, особенно нейроонкологической патологии, во многом зависят от ранней диагностики заболевания. В последнее время внимание исследователей все больше обращено на поиск биомаркеров ранней диагностики опухолей головного мозга, в том числе путем исследования сыворотки и плазмы крови больных (Yue X. et al., 2015, 2016; Sun J. et al., 2015; Abdolhoseinpour H. et al., 2016). Активно ведется также поиск маркеров прогноза течения и ответа на терапию ЗОГМ. С этой целью во время лечения проводятся исследования в сыворотке крови разных микро РНК. В исследованиях последних нескольких лет была выявлена их специфичность, роль в развитии и прогрессии глиом и доказана четкая корреляция между изменениями микро РНК и ростом глиом (Tumilson S.A. et al., 2014; Zhang R. et al., 2015). Микро РНК и белки содержатся в большом количестве в экзосомах, продуцируемых глиомами, которые проходят через ГЭБ и выявляются в сыворотке крови больных (Katakowski M., Chopp M., 2016).

Для ранней диагностики первичных ОГМ и их продолженного роста в результате выполненной работы был предложен новый метод. Учитывая то, что связь между изменением определенных веществ в сыворотке крови, специфичных для ЗОГМ, подтверждена, мы пошли путем не детекции наличия отдельных веществ в сыворотке крови, как это проводится в большинстве

исследований, а путем одномоментного определения максимально возможного количества веществ, специфичных для ЗОГМ и дающих о них более полную информацию. Наиболее подходящим методом для этой цели является ИКС сыворотки крови. Известно, что инфракрасные спектры большинства соединений строго индивидуальны, особенно в диапазоне $1350-750\text{ см}^{-1}$, который иногда называют областью «fingerprint» («отпечатков пальцев») (Krafft C., et al., 2004). Каждое индивидуальное соединение имеет в ИК-спектре десятки специфичных для этого соединения полос поглощения, что позволяет их идентифицировать по специальным таблицам. Опухолевый процесс изменяет строение липидов и белков. В липидах меняется строение боковых цепей радикалов жирных кислот. Это меняет их спектральные характеристики (Толсторожев Г.Б. и соавт., 2009; Noreen R. et al., 2011; Stelling A.L., 2013).

Результаты наших исследований показали, что выявляемые с помощью ИКС изменения спектральных характеристик определенных веществ сыворотки крови, могут выступать в роли маркеров наличия доброкачественных и злокачественных ОГМ. Метод простой в применении, не требует сложного оборудования и может быть использован в качестве скрининговой методики (патент №2519151 от 11.04.2014 г.).

При разделении опухолей на злокачественные и доброкачественные возникла необходимость рассмотрения пациентов по половому признаку. Это представляется важным, поскольку нейроонкологам хорошо известны случаи резкой активации роста и малигнизации ЗОГМ при изменении гормонального фона во время беременности (Daras M., et al., 2014; Rønning P.A., et al., 2016). Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют об определенной роли гормонов в патогенезе ЗОГМ.

С помощью ИКС нами разработана методика прогнозирования в дооперационном периоде морфологического характера и степени анаплазии опухолей головного мозга. Это оказалось важным, поскольку при проведении сравнения результатов ИКС сыворотки крови в дооперационном и послеоперационном периоде (на 3-7 сутки) в динамике нами выявлено, что в 28 случаях, по данным ИКС после удаления глиобластом отмечается снижение

степени анаплазии от Grade IV в дооперационном периоде до Grade III в послеоперационном периоде. Это сопровождается более благоприятным течением болезни с ВП в 4,3 (2,4; 9,5) мес. В других 10 случаях результаты ИКС в дооперационном и в послеоперационном периодах не менялись и по-прежнему соответствовали опухоли Grade IV, что является неблагоприятным прогностическим фактором с ВП в 22 (16; 30) дня. При этом МОВ больных составила 13,5 (6,45; 16,5) и 7 (6; 9) мес. соответственно. Полученные нами результаты разного течения заболевания у больных с глиобластомами в послеоперационном периоде косвенно подтверждаются исследованиями Marucci G. (2015), в которых показана зависимость между временем прогрессии, общей выживаемостью больных с одной стороны и тремя морфологическими подтипами глиобластом с другой.

С целью изучения обнаруженного явления с помощью ПМРС мы сравнили у 7 больных опухолями Grade IV активность метаболитов NAA, Lac, Cho, Cr, Glx и их отношений в идентичных участках перитуморальной зоны в дооперационном и послеоперационном периоде. Выявлено, что при снижении степени анаплазии, по данным ИКС в послеоперационном периоде также отмечается изменение индексов и абсолютных значений при ПМРС, соответствующие опухоли со степенью анаплазии Grade III, в случаях соответствия результатам послеоперационной ИКС опухоли Grade IV, по данным ПМРС также диагностировались изменения, характерные для опухоли Grade IV. При иммуногистохимическом исследовании перитуморальной зоны выявлено, что при снижении степени анаплазии по результатам ИКС, индекс Ki-67 соответствовал 5-10%, при соответствии послеоперационных результатов ИКС опухоли Grade IV в препаратах выявлялись участки с индексом Ki-67 выше 15% и морфологически выявлялись участки, в которых присутствовали необходимые, согласно рекомендациям ВОЗ, признаки злокачественности, характерные для глиобластом (Daumas-Duport С., 1992; WHO Classification of Tumors... 2007).

Обнаружены типичные изменения являются динамической реакцией мозга, оставшихся опухолевых клеток в перифокальной зоне, микроокружения и организма в целом на удаление основной массы опухоли, регистрируемой с

помощью ИКС сыворотки крови, ПМРС и при иммуногистохимическом обследовании перитуморальной зоны. Совокупность полученных результатов позволила нам расценить данное явление как дифференцировку глиобластом в раннем послеоперационном периоде (открытие № 470 от 25 сентября 2014).

В дальнейшем, при ИКС сыворотки крови в динамике выявлено, что при опухолях со степенью анаплазии Grade III, IV за 24 [10; 45] дня до появления изменений на МРТ отмечается повышение индекса ИКС по сравнению с предыдущим результатом обследования, что является прогностическим фактором продолженного роста опухоли. При ИКС исследовании через 2-3 нед. после каждого курса противоопухолевого лечения выявляемые изменения позволяют оценивать эффективность проводимой терапии.

Учет данных ИКС сыворотки крови при лечении больных позволили достоверно увеличить МОВ больных первичными опухолями Grade IV и Grade II ($p=0,001$ и $p=0,01$ соответственно). Статистически значимого увеличения МОВ при учете данных ИКС при лечении больных опухолями Grade III не получено ($p=0,4218$). Вместе с тем, по нашим данным, лечение больных этой группы без учета результатов ИКС позволило достичь 38,9 (4;256) мес., МОВ больных опухолями Grade III по данным литературы составляет 32-37 месяцев (Strowd R.E. et al., 2016). Проведение лечения больных с опухолями Grade III позволило достичь МОВ в 50 (14,6; 127) мес., что свидетельствуют о клинической значимости полученных результатов.

Полученные результаты превышают показатели общей выживаемости этой категории больных по данным ряда клиник (Sakarunchai I., 2013; Turkoglu E. et al., 2013).

Полученные результаты позволили разработать дифференцированный подход к лечению больных. Так, при совпадении результатов дооперационной ИКС и при гистологическом подтверждении диагноза опухоли со степенью анаплазии Grade IV лечение больных проводится по двум направлениям. При снижении анаплазии, по данным ИКС в послеоперационном периоде до Grade III лечение проводится в обычном, рекомендуемом стандартами режиме: проведение по показаниям ЛТ с темозоламидом. В дальнейшем ИКС этим больным выполняют через 2-3 нед после лучевой терапии или очередного курса

химиотерапии. При сохранении анаплазии Grade IV в послеоперационном периоде больным показано ранее начало противоопухолевой терапии (5-8 день после операции). В дальнейшем при отсутствии повышения индекса ИКС продолжают назначенную терапию и наблюдение за больным согласно стандартам и в дополнение к ним выполняют – ИКС 1 раз в 2-3 недели после каждого курса химиотерапии. Увеличение индекса ИКС по сравнению с предыдущими данными свидетельствует о продолженном росте опухоли и неэффективности лечения. В этих случаях меняют противоопухолевую терапию (рисунок 165).

При гистологическом подтверждении опухоли Grade II в случае отсутствия показаний к адъювантной терапии проводят наблюдение за больными согласно существующим стандартам. Дополнительно исследуют ИКС сыворотки крови. Глиомы со степенью анаплазии Grade II характеризуются медленным ростом, поэтому ИКС исследования выполняются с частотой 1 раз в 3-6 месяцев. При отсутствии изменений индекса ИКС продолжают наблюдение за больным. Повышение индекса обосновывает назначение пациентам противоопухолевой терапии и проведения дальнейшего наблюдения за больными согласно указанной схеме. При снижении индекса ИКС лечение прекращают, и ИКС обследование выполняют с частотой 1 раз в 3-6 месяцев. При наличии 2 и более факторов риска согласно стандартам проводят противоопухолевую терапию, дополненную, как и в случае с опухолями Grade IV через 2-3 нед. после курса терапии проводят ИКС исследование. При снижении индекса ИКС лечение прекращают, при повышении индекса ИКС назначают терапию, если за больным проводилось наблюдение или меняют схему лечения (рисунок 166).

По данным Bent M.J., 2015, МОВ больных с опухолями low-grade увеличивается от 7.8 лет без использования дополнительного лечения до 13.3 лет при использовании адъювантной химиотерапии.

По нашим данным, проведение лечения больных опухолями Grade II с учетом результатов ИКС позволило достичь МОВ в 10,04 года, при этом 66,7% на момент завершения сбора катамнеза живы. Полученные результаты

свидетельствуют, об эффективности использования метода ИКС при лечении больных опухолями Grade II.

Рисунок 166.– Алгоритм обследования и индивидуального подхода к лечению больных опухолями GradeI-II

Проведенный регрессионный анализ подтвердил связь МОВ с применением данных ИКС при коррекции противоопухолевой терапии больным первичными опухолям со степенью анаплазии Grade IV и Grade II с высокой степенью достоверности ($p < 0,0001$ и $p = 0,0453$ соответственно).

Суть данной концепции заключается в индивидуализации подхода к наблюдению и лечению больных ЗОГМ на всех этапах оказания помощи.

Лечение злокачественных опухолей головного мозга требует комплексного подхода. Проблема существующих моделей заключается в отсутствии должного взаимодействия между специалистами и отсутствии эффективного прогностического маркера ЗОГМ. В большинстве случаев предполагается наблюдение за больным нейрохирургом, который нередко и направляет к радиологу или химиотерапевту с рекомендациями дальнейшего лечения, поскольку специальных знаний у общих онкологов по особенностям течения и лечения ЗОГМ недостаточно. Для преодоления существующего положения необходимо создание специальных, тесно взаимодействующих нейроонкологических групп, в состав которых входят нейрохирурги, онкологи, химиотерапевты, радиологи.

Работа этих групп основывается на существующих стандартах, дополненная динамическим ИК спектроскопическим обследованием сыворотки крови больных. Преимуществами нашей модели является индивидуальный подход к наблюдению и лечению больных на каждом этапе, обоснованность проведения послеоперационного лечения больных.

Для этого необходимо наличие спектрофотометров и специально обученного персонала. Предлагаемый метод обладает высокой точностью и информативностью диагностики, низкой себестоимостью обследования, использование отечественной аппаратуры, позволяет проводить данное обследование на базе любых биохимических лабораторий медицинских учреждений. Метод ИКС доступен и прост в исполнении.

Важным компонентом лечения больных ЗОГМ является хирургическое удаление опухоли. При анализе объема удаления и количества оперативных

вмешательств нами выявлено, что при тотальном удалении увеличивается МОВ больных опухолями Grade IV и III, что согласуется с результатами последних исследователей данной проблемы (Мартынов Б.В., 2012; Li Y.M., et al., 2015; Almeida J.P., et al., 2015; Chaichana L. et al., 2013). Подтверждено также увеличение выживаемости у больных первичными опухолями Grade IV при нарастании количества повторных оперативных вмешательств, что также согласуется с результатами последних исследований (Chaichana K.L., 2013). Отмечено клинически значимое увеличение МОВ больных с опухолями Grade I-II и тенденция к увеличению МОВ у больных с метастазами при тотальном удалении опухолей.

При анализе метода удаления опухолей «от центра» или «по периферии» выявлено увеличение МОВ у больных с первичными и вторичными опухолями Grade IV. Не отмечено зависимости выживаемости от метода удаления при опухолях Grade I-III.

У больных, которым оперативное вмешательство по поводу диагностированной опухоли головного мозга не выполнялось, МОВ составила 6 (2,75-19,0) мес.

Одним из перспективных адъювантных методов лечения ЗОГМ является СИ и ФДТ. По полученным данным, применение данного метода в комбинации позволило увеличить МОВ больных с первичным глиобластомами до 16,5 мес. ($p=0,01$). Подтверждена высокая степень достоверности ($p=0,0001$) связи СИ и МОВ при проведении регрессионного анализа. Полученные данные совпадают с результатами последних исследований по эффективности использования СИ в лечении глиобластом (Олюшин В.Е., 2012; Okonogi N., et al., 2015; Kindy M.S., et al., 2016).

Вместе с тем, одним из осложнений метода ФДТ, описываемых в литературе, является перегревание окружающих тканей (Zhang X., et al., 2014). Для температурного контроля за процессом ФДТ мы применили тепловидение. Это позволило достоверно снизить объем перитуморального отека в аксиальной плоскости ($p=0,004$) по сравнению с контрольной группой. Но полностью ограничить нарастание перитуморального отека во всех плоскостях не удалось. Это может быть связано с одной стороны с гистоархитектоническими особенностями расположения и соотношения

серого и белого вещества головного мозга. С другой стороны – токсическим действием СРС, которые образуются при ФДТ на местном уровне, что находит отражение и на системном уровне. Так, наше исследование показало, что проведение ФТД пациентам с первичными ЗОГМ, приводило к временному повышению АОА крови и усилению выраженности эндотоксемии в первую неделю после операции. В специальной медикаментозной коррекции указанные изменений не нуждаются, так как механизм действия ФДТ основан на образовании СРС.

В настоящее время существует много методов, позволяющих интраоперационно уточнять топографию опухоли головного мозга – это навигационные системы, ультразвук, нейрофизиологический мониторинг, но каждый из методов имеет свои ограничения. Нами применен метод тепловидения в интраоперационном определении опухолей. ТВ позволяет в реальном режиме времени определять локализацию и субкортикальное распространение опухолей ($p < 0,001$).

Микрохирургическая техника является незыблемым стандартом при удалении ОГМ. Нами предложен ряд новых дополнений, направленных на совершенствование микрохирургической техники и улучшения результатов хирургического удаления опухолей. Сложными проблемами для хирургии на сегодня по-прежнему являются: выявление локализации множественных и глубоких опухолей на фоне смещения мозговых структур во время операции; интраоперационное определение границ опухоли при инфильтративном характере ее роста; дополнительная травма мозга при повторных операциях из-за образования оболочечно-мозговых рубцов после первичного удаления опухолей.

Установка «путевых меток» для интраоперационного выявления опухолей головного мозга позволяет независимо от смещения мозга и самих опухолей осуществлять доступ по заранее спланированному «безопасному» пути для окружающих структур и выявлять все опухолевые узлы.

По нашим данным, при ЗОГМ повторные операции выполнены в 35,77% случаях. Неоднократные операции связаны с необходимостью осуществления доступа к опухолям через оболочечно-мозговые рубцы, неизбежно образующиеся в зоне первичной операции. Это удлиняет оперативное вмешательство, повышает риск нанесения дополнительной травмы мозга. Нами разработан метод профилактики образования оболочечно-мозговых рубцов путем установки субдуральной мембраны. Для этой цели использовали Реперен, разработанный в Нижнем Новгороде (патент на изобретение № 2543855 от 03.02.2103 г.). Наличие субдуральной мембраны во всех случаях полностью обеспечило отсутствие оболочечно-мозговых рубцов, что подтверждено при повторных оперативных вмешательствах. Это облегчает осуществление реопераций, особенно при распространении продолженного роста опухоли за пределы предыдущих доступов.

После удаления ЗОГМ лечение пациентов включает чаще всего лучевую и химиотерапию. В настоящее время начало, и количество курсов химиотерапии зависит от степени анаплазии опухоли, и проводятся по существующим стандартам. Внедрение стандартов в клиническую практику облегчило онкологам и нейрохирургам проведение послеоперационной терапии, несколько улучшило результаты лечения нейроонкологических больных. Однако низкая выживаемость больных с глиобластомами свидетельствует о необходимости дальнейшего совершенствования терапевтических методик.

Важным фактором, лимитирующим эффективность химиотерапии, является ГЭБ. До сих пор проводятся исследования, направленные на повышение его проницаемости (ZhaoY.Z. et al., 2015). При проведении экспериментальных исследований нами впервые было выявлено, что интракаротидное введение озонированного физиологического раствора повышает проницаемость ГЭБ длительностью до суток (патент № 2391107 от 12.06.2010 г.). Это важно, поскольку терапевтическое окно маннита,

составляет 20 мин, а период деления клеток глиобластом 6-8 часов [Котельников В.М., 1978].

Фактором, ограничивающим эффективность химиотерапии, является резистентность глиом к химиопрепаратам. Существуют экспериментальные попытки повышения чувствительности глиом к химиотерапии путем использования разных химиосенсибилизаторов и методов химиосенсибилизации, в том числе путем стимуляции окислительных процессов (Fan J. et al., 2012; Zhou D., et al., 2015; Zhao Z., et al., 2015; Poschmann G., et al., 2015). Однако во всех исследованиях оценивается эффективность какого-либо одного способа или фактора, повышающих чувствительность опухолей к химиотерапии. Результаты проведенных нами исследований позволили разработать новый подход, основанный на полихимиосенсибилизации, то есть использовании нескольких факторов химиосенсибилизации одновременно, способных повысить чувствительность глиом к химиотерапии. Так, мы использовали интракаротидное введение ОФР, что приводит к повышению проницаемости ГЭБ, способствует повышению pO_2 опухолей и активации прооксидантных процессов в опухоли. Одновременно применяли также фотосенсибилизаторы, содержащие металлы переменной валентности, которые также способны усиливать прооксидантные процессы. Было выявлено, что при использовании предложенного метода полихимиосенсибилизации необходимая терапевтическая доза химиопрепаратов снижается.

Разработанные в условиях эксперимента методики повышения проницаемости ГЭБ и преодоления химиорезистентности опухолей позволяют увеличить время повышения проницаемости ГЭБ, улучшить результаты интракаротидной химиотерапии ЗОГМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность лечения больных ЗОГМ зависит от двух основных факторов. Первый – диагностика опухолей головного мозга: как своевременная первичная, так и в послеоперационном периоде ранняя диагностика продолженного роста. Второй – эффективность проводимого лечения, включающего как хирургический этап - максимально возможная резекция опухоли при условии выполнения минимально травматичного для мозговых структур оперативного вмешательства, так и медикаментозное лечение в послеоперационном периоде.

Нами впервые выявлено, что изменения показателей ИКС сыворотки крови в раннем послеоперационном периоде (3-7 сут.) являются прогностическим маркером продолженного роста глиобластом в раннем послеоперационном периоде (открытие № 470 от 25 сентября 2014 г.). В зависимости от выявляемых изменений данных ИКС меняется и тактика противоопухолевой терапии: так, снижение степени анаплазии, по данным ИКС от степени анаплазии Grade IV в дооперационном периоде до Grade III в послеоперационном периоде обосновывает проведение ранней противоопухолевой терапии. При отсутствии изменений ИКС в дооперационном и в послеоперационном периодах лечение проводится в сроки, предусмотренные стандартами.

На этапе послеоперационного противоопухолевого лечения нам удалось до клинических проявлений и изменений, по данным нейровизуализационных методик, диагностировать продолженный рост ЗОГМ. Для этого исследуются изменения индекса ИК спектров с длиной волны 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} у мужчин и к 1125 см^{-1} у женщин. Было доказано, что при опухолях Grade III, IV в среднем за 24 (10; 45) дня до появления изменений на МРТ, в крови уже происходят изменения, регистрируемые с помощью ИКС и свидетельствующие о продолженном росте опухоли. При опухолях Grade II в среднем за 4,4 [1; 8]

месяца до появления изменений, по данным МРТ и изменений в клиническом состоянии пациентов в крови также происходит увеличение показателей, свидетельствующих о продолженном росте опухоли. При этом индекс ИКС повышается по сравнению с предыдущим результатом на $0,5 \pm 0,015$. (патент на изобретение № 2463598 от 30.09.2011). Полученные данные подтверждены последующими результатами МРТ, в ряде случаев ПЭТ-КТ с метионином и при аутопсии.

Исследование в динамике изменений индекса ИКС позволяет также оценивать эффективность проводимой противоопухолевой терапии.

Таким образом, изменение данных ИКС сыворотки крови позволяет прогнозировать на этапе доклинических проявлений и до изменений, по данным МРТ продолженный рост опухоли, оценить эффективность проводимой противоопухолевой терапии и при необходимости менять ее.

При опухоли с отсутствием четких ее границ или при множественных опухолях предложен метод интраоперационного выявления множественных или глубоких опухолей и идентификации края опухоли путем использования «путевых меток» (приоритетная справка на изобретение № 2015138300 от 08.09.2015). Они устанавливаются в начале операции на границе опухоль – неизмененный мозг и непосредственно в опухолевые узлы с помощью биопсийной иглы при использовании навигационной установки. Данная методика позволяет осуществлять доступ, не уклоняясь от заранее спланированного пути, с минимальной травмой окружающих тканей ко всем, даже мелким множественным глубоким опухолевым узлам, независимо от интраоперационного смещения мозга и самих опухолей и выявить границу «опухоль – мозг».

Нами использована интраоперационная тепловизионная оценка сосудистой реактивности с применением холодной пробы, что позволяет в режиме реального времени объективизировать визуально не определяемые субдурально расположенные сосуды, определять границы патологического

очага с точностью, необходимой для коррекции и осуществления адекватного транскортикального доступа к опухолям.

К перспективным в нейроонкологии методикам относится ФДТ (Quirk B.J., et al., 2015). Для контроля перегревания окружающих тканей при ФДТ нами разработана методика интраоперационного тепловизионного контроля, что позволяет снизить ФДТ-индуцированный послеоперационный отек в перифокальной зоне (рационализаторское предложение № 2631 от 19 ноября 2013 г.).

Использование в комплексе таких селективных методов воздействия на опухолевые клетки в перифокальной зоне как СИ на основе аутологичных дендритных клеток с количеством курсов 8 и более и ФДТ позволяет увеличить МОВ больных первичными глиобластомами до 16,5 мес. ($p=0,01$).

По нашим данным, при ЗОГМ необходимость и возможность проведения повторных оперативных вмешательств составила 35,77% случаев. Проблемой, с которой сталкивается хирург при осуществлении доступа к опухолям, является наличие оболочечно-мозговых рубцов в зоне предыдущей операции. Нами разработан метод профилактики образования оболочечно-мозговых рубцов путем установки субдуральной мембраны из реперена (патент на изобретение № 2543855 от 03.02.2103 г.). Наличие субдуральной мембраны во всех случаях полностью обеспечивает отсутствие оболочечно-мозговых рубцов, что подтверждено при повторных оперативных вмешательствах. Считаем, что установка субдуральной мембраны, является необходимым условием завершения каждого оперативного вмешательства по поводу удаления ЗОГМ с целью облегчения выполнения повторных вмешательств.

При проведении экспериментальных исследований нами впервые было выявлено, что интракаротидное введение ОФР с концентрацией озона 0,7 мг/л повышает проницаемость ГЭБ до суток (патент на изобретение № 2391107 от 12.06.2010 г.). Нами разработан новый подход к лечению экспериментальных глиом, основанный на полихимиосенсибилизации, то есть

одновременном использовании нескольких факторов, способных повысить чувствительность глиом к химиотерапии (патент на изобретение № 2418587 от 20.05.2011). При использовании полихимиосенсибилизации необходимая терапевтическая доза химиопрепаратов снижается.

Одним из реальных путей дальнейшего повышения эффективности противоопухолевой терапии является индивидуализация лечения. Не нарушая применяемый алгоритм лечебно-диагностических мероприятий, рекомендованных стандартами, в качестве дополнения нами предлагается концептуальная модель организации лечения больных ЗОГМ. В основе предлагаемой модели лежит дополнение нейровизуализационных обследований согласно существующим стандартам, опциям и рекомендациям методом ИКС сыворотки крови, как маркера глиом с целью ранней диагностики ОГМ и индивидуализации противоопухолевой терапии.

Это достигается путем исследования ИКС плазмы крови в раннем послеоперационном периоде и на этапах противоопухолевой терапии в динамике. Изменения индекса ИКС, прогнозируют на раннем этапе продолженный рост ЗОГМ, что позволяет оценивать эффективность проводимой терапии и при необходимости своевременно корректировать лечение (патент № 2463598 от 10.10.2012 г.).

Основные этапы диагностической работы объединены в лечебно-диагностический алгоритм, задача которого - определить показания к проведению противоопухолевой терапии или изменить лечение при отсутствии его эффективности.

На основании исследований выработана новая концепция тактики ведения больных ЗОГМ, основанная на ранней диагностике и индивидуальном подходе к лечению больных ЗОГМ. Лечебно-диагностические мероприятия проводятся на всех этапах оказания помощи больным ЗОГМ.

Дооперационный этап

После установленного диагноза ОГМ с помощью МРТ, КТ, при ИКС до операции и в послеоперационном периоде исследуют кровь по методам, описанным в главах 3.1.3. и 3.1.4.

Данный подход позволяет:

- предварительно уточнить характер опухоли (доброкачественный-злокачественный);
- предположить морфологический характер опухоли;
- выявить опухоли со степенью анаплазии Grade IV и наметить тактику послеоперационного лечения.

Интраоперационный этап

После осуществления трепанации при множественных или глубоких опухолях до разреза ТМО выполняют установку «путевых меток» непосредственно в опухолевые узлы; при опухолях без четких границ в функционально значимых зонах, устанавливают «путевые метки» на границе опухоль-мозг. Затем проводят ТВ исследование: до вскрытия ТМО определяют расположение субдуральных сосудов; после вскрытия ТМО с помощью ТВ исследования коры уточняют локализацию опухоли. По ходу удаления опухоли осуществляют забор опухолевого материала для выполнения СИ в послеоперационном периоде. После удаления ЗОГМ при выполнении ФДТ осуществляют термоконтроль с помощью ТВ. В конце оперативного вмешательства устанавливают субдуральную мембрану.

Данный подход позволяет:

- определять границу «опухоль-мозг»;
- выявлять все опухолевые узлы, независимо от интраоперационного смещения мозга и самих опухолей;
- определять крупные субдуральные сосуды в проекции доступа;
- уточнять проекцию опухоли на кору;

- снизить перитуморальный отек после ФДТ;
- снизить травматичность доступов к опухолям при повторных операциях за счет предупреждения образования оболочечно-мозговых рубцов;
- минимизировать операционную травму.

Послеоперационный этап

После удаления глиобластом на 3-7 сутки и затем в динамике, при опухолях Grade II-IV через 2-3 нед. после каждого курса противоопухолевой терапии с помощью ИКС повторно исследуют сыворотку крови.

Данный подход позволяет:

- прогнозировать продолженный рост опухолей Grade IV в раннем послеоперационном периоде, что позволяет обоснованно проводить раннее противоопухолевое лечение при опухолях Grade IV;
- прогнозировать до клинических проявлений и до появления изменений на МРТ продолженный рост ЗОГМ на этапах проводимой противоопухолевой терапии, что позволяет определить эффективность проводимой химиотерапии и изменять схему химиотерапии при отсутствии эффекта от лечения, обоснованно ставить показания к реоперации;
- увеличить ВП и МОВ больных первичными опухолями Grade IV и Grade II.

Таким образом, проведенное исследование изменения ИКС в послеоперационном периоде в динамике позволили разработать метод прогнозирования раннего прогрессирования опухолей и выживаемости у пациентов с первичными глиобластомами и прогнозирования продолженного роста опухолей Grade II – IV на этапах лечения. Клиническое использование полученных результатов основано на использовании изменений ИКС сыворотки крови как маркера продолженного роста ЗОГМ.

Всё послеоперационное лечение больных ЗОГМ основано и зависит, прежде всего, от результатов гистологического исследования. Дополнение стандартного послеоперационного обследования больных методом ИКС

позволило разработать дифференцированный подход к лечению больных ЗОГМ. Так, в группе больных с опухолями Grade IV благоприятным прогностическим фактором в плане отсутствия риска продолженного роста опухоли в раннем послеоперационном периоде является снижение, по данным послеоперационной ИКС степени анаплазии до Grade III. В таких случаях лечение больных в послеоперационном периоде проводится в обычном, рекомендуемом стандартами режиме: проведение по показаниям ЛТ с темозоламидом. В дальнейшем ИКС этим больным выполняют через 2-3 нед после лучевой терапии или очередного курса противоопухолевой терапии. При отсутствии повышения значений отношений продолжают назначенную терапию и наблюдение за больным согласно стандартам и в дополнение к ним выполняют – ИКС 1 раз в 2-3 недели после каждого курса химиотерапии. Увеличение значений отношений по сравнению с предыдущими данными свидетельствует о продолженном росте опухоли и неэффективности проводимой химиотерапии. В этих случаях меняют противоопухолевое лечение (рисунок 165).

Соответствие данных послеоперационной (на 3-7 сутки) ИКС опухоли Grade IV, и при гистологическом подтверждении диагноза опухоли Grade IV обосновывает необходимость ранней выписки больного из нейрохирургической клиники и раннее проведение противоопухолевой терапии - на 5-7 день после операции. В дальнейшем противоопухолевая терапия и наблюдение за больным проводятся в обычном режиме, согласно существующим стандартам. После ЛТ контрольное МРТ обследование проводится согласно стандартам – на 2-6 нед, а затем каждые 2-3 мес. в течение 2-3 лет. В дополнение к данному алгоритму обследований больному после курса лучевой терапии, независимо от полученных результатов ИКС (отсутствие увеличения или повышение значения отношений по сравнению с предыдущим результатом) согласно стандартам, назначают химиотерапию. Через 2-3 недели после окончания каждого курса химиотерапии, проводят ИКС исследование плазмы крови и сравнивают с предыдущими данными с

целью раннего определения продолженного роста и оценки эффективности проведенного лечения. При отсутствии значимых изменений лечение продолжают в обычном режиме и доводят, при необходимости, согласно стандартам, до 6-10 курсов в частности, при лечении темодалом. Повышение значения отношений по сравнению с предыдущими результатами свидетельствует о продолженном росте опухоли и об отсутствии эффекта от проводимой химиотерапии. В этом случае рекомендуют замену препарата или схемы ПХТ. При прогнозе, по данным ИКС продолженного роста опухоли, рекомендуют проведение МРТ контроль 1 раз в месяц (рисунок 165).

Применение данного метода позволило увеличить МОВ больных первичными глиобластомами до 15,3 мес. ($p=0,001$).

При опухолях Grade II ИКС проводят вначале в дооперационном периоде. Первое исследование в послеоперационном периоде выполняют на 3-7 сутки после операции, последующие на этапах наблюдения и лечения больных.

В послеоперационном периоде, при отсутствии показаний к адьювантной терапии проводят наблюдение за больными согласно существующим стандартам. Дополнительно выполняют ИКС сыворотки крови с частотой 1 раз в 3-6 месяцев. При отсутствии изменений индекса ИКС продолжают наблюдение за больным. Повышение индекса обосновывает назначение пациентам противоопухолевой терапии и проведения дальнейшего наблюдения за больными по разработанному алгоритму с выполнением ИКС исследования через 2-3 нед. после каждого курса противоопухолевой терапии. При снижении на фоне лечения индекса ИКС лечение прекращают, и ИКС выполняют с частотой 1 раз в 3-6 месяцев (рисунок 166).

При наличии показаний к противоопухолевой терапии в послеоперационном периоде обследование и лечение больных проводят согласно существующим стандартам. Дополнительно исследуют индекс ИКС на 3-7 день после оперативного лечения для сравнения с последующими результатами ИКС и затем через 2-3 нед после лучевой терапии и курсов

химиотерапии. При отсутствии значимых изменений индекса ИКС лечение продолжают по назначенной онкологом схеме. Повышение индекса свидетельствует об активации опухолевого процесса и наличии продолженного роста опухоли. Это требует изменения противоопухолевого лечения, и дальнейшего наблюдения за больным. При снижении индекса лечение прекращают, и ИКС выполняют с частотой 1 раз в 3-6 месяцев, поскольку глиомы со степенью анаплазии Grade II характеризуются медленным ростом (рисунок 166).

Применение данного метода позволило увеличить МОВ больных опухолями Grade II до 120,5 мес. ($p=0,01$).

В утвержденных министерством здравоохранения России «Стандарты, опции и рекомендации в лечении первичных опухолей ЦНС» (2013), отмечено, что «раннее выявление рецидивов важно, так как существуют различные варианты лечения пациентов с рецидивами». Использование ИКС позволит дополнить существующий в настоящее время стандарт лечения больных ЗОГМ важным моментом - динамическое наблюдение за больными на этапах послеоперационного лечения, позволяющее на раннем этапе прогнозировать продолженный рост опухоли. Разработанный нами метод позволяет оценить прогноз больных ЗОГМ и подходить дифференцированно, по показаниям ИКС, к лечению.

Итак, проведенные клинические и экспериментальные исследования по изучению различных аспектов проблемы злокачественных опухолей головного мозга, позволили получить новые важные факты, приближающие нас к решению этой сложной проблемы нейроонкологии.

Несмотря на определенный прогресс в изучении проблемы ЗОГМ, она еще далека от окончательного решения. В результате исследования возникли новые теоретические и практические вопросы, требующие дальнейшего изучения.

Выявленные особенности патогенеза ЗОГМ, в частности, явление дифференцировки глиобластом, способствует раскрытию механизмов злокачественной трансформации и дифференцировки опухолей головного мозга, показывает перспективу изучения микроокружения опухолей, как

важного фактора, влияющего на продолженный рост опухолей, и как цели для терапевтического воздействия на эту область и возможности разработки новой стратегии направленного воздействия на опухолевый процесс.

Полученные результаты обосновывают необходимость продолжения изучения роли гормонов в диагностике, течении и терапии ЗОГМ. Целесообразно дальнейшее исследование возможностей разных спектров ИКС сыворотки крови, для совершенствования диагностики и улучшения результатов лечения ЗОГМ.

Возможность длительного повышения проницаемости ГЭБ открывает перспективы для дальнейших исследований по доставке не только химиопрепаратов в опухоль, но и терапевтических препаратов в пораженную мозговую ткань при лечении неврологических заболеваний.

Результаты экспериментальных исследований показывают перспективность дальнейшего развития метода полихимиосенсибилизации и применение ее в клинической практике.

ВЫВОДЫ

1. Метод инфракрасной спектроскопии позволяет диагностировать опухоли головного мозга, предположить их морфологический характер и на раннем этапе прогнозировать продолженный рост новообразования.
2. Прогностическим фактором продолженного роста опухоли является повышение, по данным инфракрасной спектроскопии значений отношений пиков с максимумом 1150 см^{-1} к высоте пика с максимумом 1130 см^{-1} для мужчин и к высоте пика с максимумом 1125 см^{-1} для женщин выше $0,5\pm 0,015$ по сравнению со значением отношения, полученным в предыдущем исследовании. Это обосновывает необходимость назначения или изменения проводимой противоопухолевой терапии.
3. Использование установки «путевых меток» с помощью безрамной навигации позволяет интраоперационно выявлять и удалять множественные образования головного мозга, а также определять границу «опухоль-мозг» при инфильтративно растущих опухолях.
4. Установка субдурально мембраны из реперена, перекрывающей полностью зону интраоперационного повреждения мозга, предупреждает образование оболочечно-мозговых рубцов в послеоперационном периоде.
5. Интраоперационное использование тепловизионного контроля процесса фотодинамической терапии с ограничением повышения температуры ложа опухоли выше 37°C позволяет снизить отек перитуморальной зоны в послеоперационном периоде ($p=0,004$).
6. Соответствие результатов инфракрасной спектроскопии на 3-7 сутки в послеоперационном периоде опухоли Grade IV является показанием к раннему проведению противоопухолевой терапии при

глиобластомах, что увеличивает МОВ от 4 мес. при стандартном подходе к лечению до 11,8 мес. ($p=0,09$).

7. Дополнение комплексного лечения первичных глиобластом специфической иммунотерапией на основе аутологичных дендритных клеток в количестве курсов более 7 в комбинации с фотодинамической терапией приводит к увеличению МОВ до 16,5 мес. ($p=0,01$).
8. Однократное введение озонированного физиологического раствора в эксперименте в концентрации 0,7 мг/л через 15 мин приводит к повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера, сохраняющемуся до суток.
9. Повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера с помощью интракаротидного введения озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 0,7 мг/лс последующим введением металлокомплекса терафталата в дозировках 2,5 - 3 мг/кг обеспечивает полихимиосенсибилизацию экспериментальных глиом 101.8, позволяя снизить дозу химиопрепарата этопозид от 40 до 13 мг/м² и достоверно увеличивая выживаемость животных до 27,4 дней по сравнению с монохимиосенсибилизацией указанными препаратами.
10. Внедрение в практику разработанных новых методов ранней диагностики и усовершенствования хирургического и послеоперационного лечения злокачественных опухолей головного мозга позволило увеличить медиану общей выживаемости больных первичными глиобластомами до 15,3 ($p=0,001$)мес., при опухолях со степенью анаплазии Grade II до 120,5 ($p=0,01$) мес.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразна организация комплексной помощи больным ЗОГМ (нейрохирурги, химиотерапевты, радиологи) на основе утвержденных стандартов (МЗ, 2013), дополненных обследованием сыворотки крови с помощью инфракрасной спектроскопии на всех этапах лечения, что обеспечивает дифференцированный подход к лечению: преемственность, своевременность, обоснованность назначения и контроль эффективности проводимой терапии.
2. Рекомендуется проведение инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в качестве дополнительного метода диагностики первичных ЗОГМ и их продолженного роста.
3. Целесообразно применение инфракрасной спектроскопии сыворотки крови у больных глиобластомами в дооперационном и послеоперационном периоде для определения риска продолженного роста опухоли в раннем послеоперационном периоде. При соответствии степени анаплазии по результатам ИКС в послеоперационном периоде (3-7 сут. после операции) опухоли со степенью анаплазии Grade III, лечение проводить в сроки, рекомендованные существующими стандартами. При соответствии отсутствию Grade IV в послеоперационном периоде, необходимо раннее проведение противоопухолевой терапии.
4. При первичных опухолях Grade IV и Grade II ИКС исследование выполнять на 2-3 нед. после каждого курса противоопухолевого лечения с целью определения продолженного роста опухоли, оценки эффективности химиотерапии, и ее коррекции при необходимости.
5. При наличии множественных опухолей рекомендована установка «путевых меток», что обеспечивает интраоперационно выявление всех опухолей, в которые устанавливаются метки, независимо от смещения мозга и самих опухолей. Установка меток на границе

«опухоль-мозг» рекомендована при расположении опухолей вблизи функциональных зон и при отсутствии четких границ между опухолью и мозгом.

6. Во избежание формирования оболочечно-мозговых рубцов в послеоперационном периоде, при удалении опухолей головного мозга целесообразно выполнять установку субдуральных мембран.
7. Интраоперационный тепловизионный контроль процесса фотодинамической терапии позволяет снизить перитуморальный отек в послеоперационном периоде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев, А.Г. Первичные опухоли центральной нервной системы в республике Татарстан (клиническая эпидемиология и организация медицинской помощи): автореф. дис. ... канд. мед. наук / Алексеев А.Г. - СПб., 2005. – 21 с.
2. Алехина, С.П. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты / С.П. Алехина Т.Г. Щербатюк. - Н. Новгород: Медицина, 2003. - 239 с.
3. Анисимов, А.Г. Химически индуцированная дифференцировка клеток опухолевых линий / А.Г. Анисимов, Т.О. Волкова, А.А. Чекмасова, Н.Н. Немова // Онтогенез. - 2002. – Т. 33, №5. – С. 325-341.
4. Аронов, М.Ф. Временное гиперосмолярное открытие гематоэнцефалического барьера, как метод повышения эффективности химиотерапии опухолей головного мозга / М.Ф. Аронов, Г.Л. Кобяков, А.Ю. Лубнин, С.Б. Яковлев // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. - 2008. - №3. – С. 52-59.
5. Атясов, Н.И. Антигипоксический эффект парентеральной озонотерапии в зависимости от путей введения при осложненном сахарном диабете / Н.И. Атясов, И.К. Газин, И.Б. Таратынов // Реаниматология и интенсивная терапия. – 2000. - №4. – С. 96-97.
6. Балаховский, И.С. Инфракрасная спектроскопия в клинической лабораторной диагностике / И.С. Балаховский // Клинич. лаб. диагностика. - 1995. - № 4. Прил. - С. 24-29.
7. Балканов, А.С. Морфологические проявления нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера в диффузной глиоме головного мозга / А.С. Балканов, В.П. Черников, Т.А. Белоусова, А.М. Киселев // Клинич. и эксперим. морфология. – 2014. - №1. – С. 8-12.
8. Балканов, А.С. Первые результаты терапии в режиме гиперфракционирования в сочетании с ломустином при глиомах III-IV

- степени злокачественности / А.С. Балканов, П.Ю. Поляков, О.А. Быченков // Рос. онкол. журнал. - 2002. - №6. – С. 24-26.
9. Балязин, И.В. Патент на полезную модель 71531 РФ, МПК А61В5/11. Система диагностики онкологических поражений головного мозга / Балязин И.В., Магомедов А.А. - № 2007146685/22; заявл. 14.12.07, опубл. 20.03.08.
 10. Барабой, В.А. Перекисное окисление и радиация / В.А. Барабой, В.Е. Орел, И.М. Карнаух. – Киев: Наук. Думка, 1991. – 256 с.
 11. Барабой, В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Барабой В.А., Сутковой Д.А. – Киев: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 220с.
 12. Белко, Н. С. Прогностическое значение уровня цитокинов сыворотки крови у больных с супратенториальными менингиомами / Н.С. Белко, Ю.В. Кислицын, И.Н. Фищева // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2014. – Т 114, №10. - С 94-96.
 13. Бережная, Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. II. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения / Н.М. Бережная // Онкология. – 2009. – Т. 11, №2. – С. 86-93.
 14. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / М.В. Биленко. - М.: Медицина, 1989. - 368 с.
 15. Боголепов, Н.Н. Ультраструктура мозга при гипоксии / Н.Н. Боголепов. - М.: Медицина. – 1979. – 168 С.
 16. Блохин, Н.Н. Химиотерапия опухолевых заболеваний / Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И. - М.: Медицина, 1984. – 303 с.
 17. Божкова, В.П. Руководство по культивированию перевиваемой ткани / В.П. Божкова. – М.: Наука, 1988. – С. 30-37.
 18. Борисов, К.Е. Стволовые клетки глиальных опухолей головного мозга / К.Е. Борисов, Д.Д. Сакаева // Арх. патологии. – 2013. - №2. – С. 43-52.

- 19.Бояринов, Г.А. Диагностика новообразований головного мозга методом инфракрасной спектроскопии / Г.А. Бояринов, А.С. Гордцов, А.П. Фраерман, С.Л. Лебедь // Нижегород. мед. журн. – 2005. - № 3. – С 168-170.
- 20.Бредбери, М. Концепция гематоэнцефалического барьера / Бредбери, М.; пер. с англ. В.И. Кандора; под ред. Г.Н. Кассиля. - М.: Медицина, 1983. – 480 с.
- 21.Бреслер, С. Е. Физика и химия макромолекул / С. Е. Бреслер, Б.Л. Ерусалимский. – М.: Наука, 1965. – 509 с.
- 22.Булкина, З.П. Противоопухолевые препараты / З.П. Булкина. - Киев.: Наук. думка, 1991. - 301с.
- 23.Васильев, Ю.М. Опухолевые клетки: механизмы автономности / Ю.М. Васильев // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева. - 1986. - Т. 31, № 3. - С. 252 - 260.
- 24.Викторов, И.В. Руководство культивирования нервной ткани / И.В. Викторов – М.: Наука, 1988. – С.31-34.
- 25.Вилков, Л.В. Физические методы исследования в химии / Л.В. Вилков, Ю.А. Пентин. – М.: Высшая школа, 1987. - С. 13 - 14.
- 26.Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в живых системах / Ю.А. Владимиров, О.А. Азизова, А.И. Деев. – М., 1991. – 184 с. - (Итоги науки и техники. Сер. Биофизика / ВНИИТИ; Т. 29).
- 27.Воловик, М.Г. О роли метаболизма и кровотока в формировании термопаттернов, наблюдаемых в ходе оперативных вмешательств у нейрохирургических больных / М.Г. Воловик // Актуальные проблемы нейрохирургии: материалы ежегод. науч.–практ. конф. / под ред. А.П. Фраермана. - Н.Новгород, 2003. - С. 88-104.
- 28.Габибов, М.М. Изучение процессов окисления липидов в различных тканях крыс при гипероксии и постгипероксическом периоде / М.М. Габибов, К.Г. Карагезян // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1981. – Т. 91, № 6. – С. 682-684.

29. Габидуллин, А.Ф. Неврологический дефицит у больных после удаления опухолей головного мозга с использованием высокотехнологичных нейрохирургических методов и оптимизация лечения больных этой группы / А.Ф. Габидуллин, В.И. Данилов, А.Г. Алексеев // Неврол. вестн. - 2015. - Т. 47, вып. 2. - С. 26-29.
30. Габриэлян, Н.И. Определение средних молекул скрининг-методом / Н.И. Габриэлян, А.А. Дмитриев // Клинич. медицина. - 1981. - № 10. - С. 38-42.
31. Гайдар, Б.В. Лучевая диагностика опухолей головного и спинного мозга / Б.В. Гайдар, Т.Е. Рамешвили, Г.Е. Труфанов, В.Е. Парфёнов – СПб.: Фолиант, 2006. – 336 с.
32. Герасимова, Г.К. Бинарная каталитическая терапия – новый подход к контролю роста злокачественных опухолей с помощью высокореактивных радикалов кислорода / Г.К. Герасимова, Т.А. Сидорова, Т.И. Солнцева, и др. // Рос. биотерапевт. журн. – 2006. – Т. 5, №3. – С. 98-105.
33. Горбацевич, Л.И. О внутриартериальном применении растворов перекиси водорода в эксперименте и клинике / Л.И. Горбацевич, Н.Н. Тимофеев // Вестн. Хирургии им. И.И. Грекова. – 1972. – Т. 108, № 2. - С.119-123.
34. Гордецов, А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей / А.С. Гордецов // Современные технологии в медицине. – 2010. - № 1. – С. 84-98.
35. Горенштейн, А.Е. Эпидемиологические аспекты первичных опухолей головного мозга и вопросы организации нейроонкологической помощи в Калининградской области: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Горенштейн А.Е. - СПб.; 2009. – 23 с.
36. Горяйнов, С.А. Флуоресцентная диагностика и лазерная биоспектроскопия как один из методов мультимодальной нейронавигации в нейрохирургии / С.А. Горяйнов, А.А. Потапов, Д.А.

- Гольбин // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. - 2012. - Т. 76, № 6. - С. 57-65
37. Горяйнов, С.А. Флуоресцентная навигация и лазерная спектроскопия в хирургии глиом головного мозга / С.А., Горяйнов, А.А., Потапов, В.Б. Лощенов, Т.А. Савельева. - М.: Медиа Сфера, 2014. – 151 с.
38. Давыденко, Д.В. Продолжительность жизни онкологических больных с разным уровнем окислительного стресса в крови в зависимости от экологического неблагополучия районов проживания: автореф. дис. ...канд. мед. наук / Давыденко Д.В. - Н.Новгород, 2013. - 25 с.
39. Данилов, В.И. О совершенствовании медицинской помощи больным с метастатическими опухолями центральной нервной системы в республике Татарстан / В.И. Данилов, Р.Ш. Хасанов, А.Г. Алексеев и др. // Казан. мед. журн. - 2012. Т. 93, № 2. - С. 241-245.
40. Димант, И.Н. Окислительные процессы и опухолевый рост / И.Н. Димант, Р.К. Шарипов, Н.К. Муратхджиев. - Ташкент: Ибн Сина, 1992. – 156 с.
41. Земская, А.Г. Опухоли головного мозга астроцитарного ряда / А.Г. Земская, Б.И. Лещинский. - Л.: Медицина, 1985. – 214 с.
42. Зінченко, В.А. Морфологічні аспекти радіорезистентності клітин пухлини / Зінченко В.А. // Укр. радіол. журн. - 1998. – Т. 6, № 1. – С. 449-452.
43. Зозуля, Ю.А. Глиомы головного мозга / Ю.А. Зозуля. - Киев.: УИПК "ЕксОб", 2007. – 632 с.
44. Зозуля, Ю.А. Молекулярная генетика и перспективы молекулярной нейрохирургии / Ю.А. Зозуля.А., Н.Я. Гридина // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 1998. - №4. – С. 45-51.
45. Зозуля, Ю.А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – М.: Знание, 2000. – 343 с.

46. Зозуля, Ю.А., Проблемы современной нейроонкологии / Ю.А. Зозуля, В.Д. Розуменко, Н.И. Лисяный // Журн. АМН України. – 1999. – Т. 5, № 3. – С. 426-441.
47. Иванов, С.Д. Пат. 2129274 РФ, МПК G01N33/50. Способ определения показаний к проведению лучевой терапии при первичном лимфогранулематозе / Иванов С.Д., Кобытова Л.И., Ямшанов В.А., Ильин Н.В. - № 97101037/14; заявл. 30.01.97; опубл. 20.04.99, Бюл. 11.
48. Иванов, С.Д. Пат 2212035 РФ, МПК G01N33/50. Способ определения показаний к проведению химиотерапии первичным больным лимфогранулематозом и распространенным раком молочной железы / Иванов С.Д., Ямшанов В.А., Хазова Т.В. и др. - № 2001117350/14; заявл. 27.06.01; опубл. 10.09.03.
49. Иванов, К.П. Основы энергетики организма. Т.5. Энергетика живого мира. Физиологические проблемы / К.П. Иванов. - СПб.: Наука, 2007. - С. 193–200.
50. Каган, В.Е. Механизмы структурно-функциональной модификации мембран при перекисном окислении липидов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Каган В.Е. - М., 1981. – 48с.
51. Календа, Г.С. К вопросу о механизмах восстановления популяции опухолевых клеток после облучения в летальных дозах / Г.С. Календа, А.С. Якубов, Е.Г. Тырсина, и др. // Рос. онкол. журн. - 2001. - № 2. – С. 37-42.
52. Кейтс, М. Техника липидологии. Выделение, анализ идентификация липидов: пер с англ. / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 112 с.
53. Кислицин, Ю.В. Диагностическое и прогностическое значение иммунологических и биохимических показателей крови и ликвора у больных опухолями головного мозга: автореф. дис. ... д-ра мед наук / Кислицин Ю.В. – СПб, 2002. - 38 с.
54. Кислицын, Ю.В. Изменения показателей иммунного статуса у больных с супратенториальными менингиомами / Ю.В. Кислицын // Журн.

- неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 1999. - Т. 99, № 11.- С. 26-28.
- 55.Клинцова, Е.С. Исследование эффективности озона, 5-фтор урацила и доксорубицина в терапии экспериментальных опухолей: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Клинцова Е.С. - Старая Купавна, 2007. – 23 с.
- 56.Кобяков, Г.Л. Химиотерапия в комплексном лечении больных с первичными злокачественными опухолями головного мозга / автореф. дис. ... д-ра. мед. наук /Кобяков Г.Л. – М. 2011. – 48 с.
- 57.Кобяков, Г.Л. Лечение рецидива глиобластомы: есть ли успех? / Кобяков Г.Л., Смолин А.В., Бекашев А.Х., и соавт. // Опухоли головы и шеи. - 2014. - № 3. - С. 12-21.
- 58.Коган, А.Х. Резистентность ишемизированных тканей к инициированию перекисью водорода свободно-радикального окисления // Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии / А.Х. Коган, А.Я. Медных, С.М. Николаев: материалы симп. – М.: Наука, 1976. – С. 76-78.
- 59.Коновалов, А.Н. Использование роботизированной радиохирургической системы КиберНож (CyberKnife) для лечения нейрохирургических больных / А.Н. Коновалов, А.В. Голанов, Г.Е. Горлачев, и др. // Журн. Вопр. Нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, 2012. - Т. 76. №1. - С. - 3-13.
- 60.Коновалов, А.Н., Магнитно-резонансная томография в нейрохирургии / А.Н. Коновалов, В.Н. Корниенко, И.Н. Пронин. - М.: Видар, 1997. - С. 264-267.
- 61.Константинова, М.М. Современное состояние и перспективы химиотерапии злокачественных опухолей головного мозга / М.М. Константинова // Соврем. онкол. -2002. - №3. – С. 3-6.
- 62.Корниенко, В.Н. Диагностическая нейрорадиология / В.Н. Корниенко, И.Н. Пронин. – М.: ИП «Андреева Т.М.», 2006. – 1327 с.

- 63.Корытова, Л.И. Результаты комбинированного лечения опухолей головного мозга различного генеза / Л.И. Корытова, Р.М. Жабина, Т.В. Хазова, В.П. Сокурено // *Вопр. Онкологии*. - 2003. – Т. 49, № 5. – С. 608-611.
- 64.Котельников В.М., Архангельский В.В., Сафронов В.А. Некоторые параметры клеточной пролиферации в макроглиальных опухолях человека / В.М.Котельников, В.В. Архангельский, В.А. Сафронов // *Журн. Вopr. Нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. – 1976. - №1. – С. 36-41.
- 65.Коста, А.Н. Общий практикум по органической химии. - М.: Мир, 1965. - 102 с.
- 66.Кравец, Л.Я. Пат. №2269287 РФ МПК А61В5/01. Способ оценки реактивности сосудов коры перитуморальной зоны супратенториальных опухолей / Кравец Л.Я., Воловик М.Г., Колесов С.Н., и др. - № 2004120642/14; заявл. 06.07.04; опуб. 10.02.2006.
- 67.Кузьмина, Е.И. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободнорадикальных реакций в биологических субстратах / Е.И. Кузьмина, А.С. Нелюбин, М.К. Щенникова // *Межвуз. сб. биохимии и биофизики микроорганизмов*. - Горький, 1983. - С.179-183.
- 68.Кукош, В.И. Пат № 1363996 РФ МПК G01N33/48 Способ интраоперационной диагностики рака легкого / Кукош В.И., Гордцов А.С., Учугина А.Ф., и др.. - № 3967537/14; заявл. 02.09.85; опубл. 10.12.96.
- 69.Левинский, Я.А. Сравнительная морфология и ИК-спектроскопия долевых и сегментарных бронхов человека в возрастном аспекте / Я.А. Левинский // *Современные проблемы оценки движущих факторов здоровья населения: сб. науч. тр. АГМИ*. - Алма-Ата, 1991. - С. 144—148.
- 70.Левченко, Л.И. Перекисное окисление и антиокислительная активность липидов в опухолевой ткани и крови больных с нейроонкологическими

- заболеваниями / Л.И. Левченко, М.Л. Демчук // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. - 1991. - № 4. – С. 23-25.
- 71.Лисяный, Н.И. Стволовые клетки злокачественных глиом и их взаимодействие с клеточным микроокружением ткани мозга / Н.И. Лисяный, А.Н. Лисяный // Укр. нейрохірургіч. журн. – 2011.- №2. – С. 9-13.
- 72.Мартынов, Б.В. Комбинированное хирургическое лечение глиальных образований головного мозга с использованием комплекса современных методов нейровизуализации в военных лечебных учреждениях: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. / Мартынов Б.В. – СПб., 2013. – 30 с.
- 73.Мартынов, Б.В. Метод стереотаксической криодеструкции в лечении больных глиомами головного мозга / Б.В. Мартынов, А.И. Холявин, В.Е. Парфёнов, и др. // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. - 2011. - Т. 75. № 4. - С. 17-24.
- 74.Мартынова, М.А. Резкое снижение озонорезистентности клеточных липидов при выделении мембранных препаратов / М.А. Мартынова, В.К. Матус, С.В. Конев // Озон в биологии и медицине: тез. докл. 2й Всерос. Нуч.практ. конф. с междунар. участием. - Н.Новгород, 1995. – С. 40.
- 75.Марченко, С.В. Комплексное лечение злокачественных глиом больших полушарий головного мозга / С.В. Марченко // Вопр. онкологии. – 1997. – Т. 43, № 6. – С. 610-612.
- 76.Мате, Ж. Активная иммунотерапия рака, иммунопрофилактика и иммунореабилитация / Ж. Мате. - М.: Медицина, 1980. – 424 с.
- 77.Мацко, Д.Е. Атлас опухолей центральной нервной системы (гистологическое строение) / Д.Е. Мацко, А.Г. Коршунов. – СПб., 1998. - 200 с.
- 78.Мацко, Д.Е. Нейрохирургическая патология / Д.Е. Мацко. – СПб.: изд-во РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, 2015. – С. 57-123.

- 79.Можейко, Р.А. Клиническая эпидемиология первичных опухолей головного мозга в Ставропольском крае: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Можейко Р.А. - СПб., 2004. – 23. с.
- 80.Никифоров, Б.М. Опухоли головного мозга / Б.М. Никифоров, Д.Е. Мацко. - СПб.: Питер, 2003. – 311 с.
- 81.Новиков, В.С. Программированная клеточная гибель / В.С. Новиков. - СПб.: Наука, 1996. – 276 с.
- 82.Олюшин, В.Е., Иммуноterapia у пациентов с продолженным ростом глиобластом головного мозга / В.Е. Олюшин, Г.С. Тиглиев, О.В. Острейко, М.В. Филатов // Современные минимально-инвазивные технологии: 6-й междунар. симп. - СПб., 2001. – С. 265-269.
- 83.Олюшин, В.Е. Обоснование и опыт применения фотодинамической терапии (ФДТ) и фотодиагностики (ФД) в лечении глиальных опухолей головного мозга / Олюшин В.Е., Ростовцев Д.М. // Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика: Сб. науч. тр. – СПб.: Лань, 2011. – С. 191-202.
- 84.Олюшин, В.Е. Специфическая противоопухолевая иммуноterapia на основе дендритных клеток в комплексном лечении больных злокачественными церебральными глиомами / В.Е. Олюшин, М.В. Филатов, А.Ю. Улитин, С.П. Бажанов. СПб.: Знакъ, 2012. – 211 с.
- 85.Осинский, С.П. Микрофизиология опухолей / С.П. Осинский, П. Ваупель. - Киев: Наук. думка, 2009. – 254 с.
- 86.Педаченко, Е.Г. Радиоиндуцированные внутричерепные менингиомы / Е.Г. Педаченко, Р.А. Велибеков // Врacheб. дело. – 1988. - № 4. – С. 118-120.
- 87.Переводчикова, Н.И. Противоопухолевая химиотерапия / Н.И. Переводчикова. - М.: Медицина, 1993. – 224 с.
- 88.Петрова, И.А. Газохроматографическое определение жирных кислот сухой сыворотки крови / И.А. Петрова, Л.В. Кузнецова // Клинич. лаб. диагностика. - 2012. - № 6. - С. 20-22.

- 89.Пицхелаури Д.И., Быканов А.Е., Жуков В.Ю. Современное состояние проблемы хирургического лечения глиальных опухолей островковой доли мозга / Пицхелаури Д.И., Быканов А.Е., Жуков В.Ю. и соавт. // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 2015. – Т. 79, № 2. – С. 111-116.
- 90.Подопригора, А.Е. Протонная магнито-резонансная спектроскопия в диагностике объемных заболеваний головного мозга: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Подопригора А.Е. – М., 2002. – 30 с.
- 91.Райхлин, Н.Т. Апоптоз и его роль в механизмах регуляции роста опухолевых клеток с множественной лекарственной устойчивостью / Н.Т. Райхлин, Е.А. Смирнова А.Г. Перевощиков // Арх. Патологии. - 1996. – Т. 58, №2. – С. 3-8.
- 92.Розуменко, В.Д. Глиомы головного мозга: комплексная восстановительная терапия в ранний послеоперационный период / В.Д. Розуменко А.П. Хорошун // Укр. Нейрохірургіч. журн. – 2004. – №2. – С. 34-41.
- 93.Розуменко, В.Д. Фотодинамическая терапия опухолей головного мозга: эффект в культуре глиомы /штамм101,8/ с применением фталоцианина / В.Д. Розуменко, В.М. Семенова // Цитология. - 2001. – Т. 43, №1. - С. 65-70.
- 94.Скворцова, Т.Ю. Сравнительная оценка радиофармпрепаратов в ПЭТ диагностике опухолей головного мозга / Т.Ю. Скворцова, З.Л. Бродская, М.С. Рудас //Мед. визуализация . – 2001. - № 1. – С 67-74.
- 95.Стандарты, опции и рекомендации в лечении первичных опухолей ЦНС (2012). Ассоциация нейрохирургов России. – 50 с.
- 96.Странадко, Е.Ф. Краткий исторический очерк развития фотодинамической терапии / Е.Ф. Странадко // Фотодинамическая терапия и флуоресцентная диагностика: Сб. науч. тр. – СПб., 2011. - С. 7-15.

97. Странадко, Е.Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии / Е.Ф. Странадко // Рос. онкол. журн. - 2000. - № 4. – С. 52-56.
98. Сыркин, А.Б. Терафтал – новый препарат для бинарной каталитической терапии злокачественных опухолей / А.Б. Сыркин, О.С. Жукова, Б.С. Кикоть, и др. // Рос. хим. журн. - 1998. – Т. 42, №5. – С. 140-146.
99. Тараховский, А.М. Роль системы образования и детоксикации супероксидных радикалов в механизме противоопухолевого эффекта адриамицина / А.М. Тараховский, Е.Н. Жмарева, С.А. Ромоданов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. -1983. – Т. 96, № 11. - С. 86-88.
100. Тарусов, Б.Н. Окислительные свободнорадикальные процессы и биоантиоксиданты при канцерогенезе / Б.Н. Тарусов // Биофизика рака. – Киев: Наук. думка, 1976. – С. 107-130.
101. Тоноян, А.С. Корреляция диффузно-куртозисной МРТ с пролиферативной активностью глиом головного мозга / А.С. Тоноян, И.Н. Пронин, Д.И. Пицхелаури, и др. // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 2015. – Т. 79, № 6. – С. 5-14.
102. Тиглиев, Г.С. Внутречерепные менингиомы / Г.С. Тиглиев, В.Е. Олюшин, А.Н. Кондратьев. - СПб.: Изд-во РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, 2001 - 560 с.
103. Толсторожев, Г.Б. Диагностика онкологических патологий человека методом инфракрасной спектроскопии / Г.Б. Толсторожев // Журн. прикладной спектроскопии. - 2009. – Т. 76, № 6. –С. 805-816.
104. Труфанов, Г.Е. Магнито-резонансная спектроскопия / Г.Е. Труфанов, Л.А. Тютин. - СПб.: ЭЛ-БИ-СПб, 2008. – 239 с.
105. Труфанов, Г.Е. Совмещенная позитронно-эмиссионная и компьютерная томография (ПЭТ-КТ) в диагностике опухолей головного мозга / Г.Е. Труфанов, Т.Е. Рамешвили, Н.И. Дергунова, И.В. Бойков. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. – 91 с.

106. Улитин, А.Ю. Метастатические опухоли головного мозга / А.Ю. Улитин, В.Е. Олюшин, Б.И. Сафаров, Д.Е. Мацко. - СПб.: Изд-воРНХИ им. проф. А.Л. Поленова, 2010. – 384 с.
107. Улитин, Д.Е. Нейроэпителиальные опухоли головного мозга / А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко, В.Е. Олюшин. –СПб.: ООО «Синтез Бук», 2014. 433с.
108. Улитин, А.Ю. Радиоиндуцированная глиобластома у больной с аденомой гипофиза / А.Ю. Улитин, В.Е. Олюшин, О.Ю. Размологова, и др. // Нейрохирургия. – 2007. – № 2. – С. 54-57.
109. Усов, В.Ю. Первый опыт магниторезонансной томографии с контрастированием отечественным парамагнитным комплексом Fe(I) – ферротетрином при опухолях центральной нервной системы // Современные малоинвазивные технологии в нейрохирургии, вертебрологии, неврологии / В.Ю. Усов, О.Ю. Бородин, М.Л.Белнин и др.: материалы симп. - СПб.: Наука, 2001. – С. 277-279.
110. Улитин, А.Ю. Эпидемиология первичных опухолей головного мозга в Санкт-Петербурге / А.Ю. Улитин, В.Е. Олюшин, И.В. Поляков // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. - 2005. - № 1. – С. 6-12.
111. Фадеев, Б.П. Комбинированное лечение глиальных и метастатических опухолей головного мозга / Б.П. Фадеев, Р.М. Жабина // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 2005. – Т. 164, № 1. – С. 80-82.
112. Филоненко, Д.В. Результаты I-II фазы клинического исследования бинарной каталитической системы терафтал + аскорбиновая кислота у больных с опухолевым плевритом / Д.В. Филоненко, М.Б. Бычков, В.А. Горбунова // Рос. Биотерапевт. журн. - 2012. - Т. 11, № 2. - С. 56.
113. Франкиянц, Е.М. Состояние антиоксидантной системы крови и ткани мозга при злокачественных глиомах / Е.М.Франкиянц, В.А.

- Балязин, Э.В. Сагертъянц, Н.В. Мусиенко // Нейрохирургия. - 2002. - № 3. - С.42-45.
114. Франкфурт, О.С. Клеточные механизмы химиотерапии опухолей / О.С. Франкфурт. М.: Медицина, 1976. – 390 с.
 115. Халанский, А.С. Новые перевиваемые глиомы головного мозга крыс / А.С. Халанский, Л.И. Кондакова, А.П. Авцын // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. -1995. - № 2. – С. 23-25.
 116. Холявин, А.И. Выбор траектории доступа при стереотаксических вмешательствах у пациентов с внутримозговыми опухолями / А.И. Холявин, Б.В. Мартынов, В.А. Фокин, Д.В. Свистов // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. - 2011. - Т. 170, № 3. - С. 77-83.
 117. Холявин, А.И. Томография головного мозга и стереотаксическое наведение / А.И. Холявин, В.Б. Низковолос, А.Д. Аничков // Мед. техника. - 2014. - № 1. - С. 20-23.
 118. Черезов, А.Е. Общая теория рака: тканевый подход / А.Е. Черезов. - М.: Изд-во МГУ, 1997. - 252 с.
 119. Черкаев, В.А. Хирургия опухолей основания черепа, распространяющихся в глазницу, околоносовые пазухи, полость носа, крылонебную и подвисочную ямки: история и современное состояние диагностики и подходов к хирургическому лечению / Черкаев В.А., Кадашева А.Б., Гольбин Д.А., и соавт. // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. - 2013. - Т. 77, № 5. - С. 3-15.
 120. Чехонин, В.П. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения гематоэнцефалического барьера / В.П. Чехонин, В.П. Баклаушев, Г.М. Юсабалиева и др. // Вестн. РАМН. – 2012. - № 8. – С. 66-78.
 121. Шамаев, М.И. Изменение мозговых сосудов при глиомах полушарий головного мозга: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Шамаев М.И. - Киев, 1983. – 25 с.
 122. Шафракский, Л.Л. А. с. 306664 СССР, МКИ А61В10/00. Способ

- диагностики опухолей костей / Л.Л. Шафранский, Ю.А. Кушников, Л.В. Левченко (СССР). – 1529404/31-16; заявл. 23.07.68: опубл. 27.06.72.
123. Шрамка, М. Стереотаксическая радиохирургия / М. Шрамка, М. Малачек // Укр. Радіологіч. журн. – 2003. - №3. – С. 17-24.
 124. Шубина, И.Ж. Современные представления о противоопухолевом иммунитете / И.Ж. Шубина, А.В. Сергеев, Л.Т. Мамедова, Н.Ю. и др. // Рос. биотерапевтич. журн. – 2015. - Т. 14, № 3. – С. 19-28.
 125. Щербатюк, Т.Г. Влияние озонированного физиологического раствора на прооксидантную и антиоксидантную системы у крыс с саркомой -45: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Т.Г. Щербатюк. - Н. Новгород, 1997. – 25 с.
 126. Щербатюк, Т.Г. Морфофункциональные изменения опухолевой ткани штамма лимфосаркомы Плиса, вызванные интра-и паратуморальным введением озонированного физиологического раствора / Т.Г. Щербатюк // Озон и методы эфферентной терапии в медицине: IV всерос. науч-практ. конф. 6-8 дек. - Н. Новгород, 2000. – С. 12-13.
 127. Эмануэль, Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов / Эмануэль Н.М. - М.: Наука, 1977. – 416 с.
 128. Ярмоненко, С.П. Биологические основы лучевой терапии опухолей / С.П. Ярмоненко, А.А. Войнсон, Г.С. Календо, Ю.И. Рампан. М.: Медицина, 1976. – 272 с.
 129. Ярмоненко, С.П. Кислородный эффект и лучевая терапия опухолей / С.П. Ярмоненко, А.А. Вайнсон, Э. Магдон. – М.: Медицина, 1980. – 246 с.
 130. Adams, S. The kynurenine pathway in brain tumor pathogenesis / S. Adams, N. Braidy, A. Bessede et al. // Cancer Res. – 2012. - Vol. 72 (22). – P. 5649-5657.

131. Albert, M.L. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs / M.L. Albert, B. Sauter, N. Bhardwaj // *Nature*. – 1998. – Vol. 392. – P. 86–89
132. Almeida, J.P. The value of extent of resection of glioblastomas: clinical evidence and current approach / J.P. Almeida, K.L. Chaichana, J. Rincon-Torroella, A. Quinones-Hinojosa // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* – 2015. – Vol. 15 (2). – P. 517.
133. Altieri, R. Glioma Surgery: Technological Advances to Achieve a Maximal Safe Resection / R. Altieri, F. Zenga, M.M. Fontanella et al. // *Surg. Technol. Int.* – 2015. – Vol 27. – P. 297-302.
134. Anuszevska, E.L. Studies on adaptation to adriamycin in cells pretreated with hydrogen peroxide / E.L. Anuszevska, B.M. Gruber, J.N. Koziorowska // *Biochem. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 54 (5). – P. 597-603.
135. Arlt, F. Intraoperative 3D contrast-enhanced ultrasound (CEUS): a prospective study of 50 patients with brain tumours / F. Arlt, C. Chalopin, A. Müns et al. // *Acta Neurochir. (Wien)*. – 2016. –Vol. 158 (4). - P. 685-694. doi: 10.1007/s00701-016-2738-z.
136. Aslani, A. The predictive value of body protein for chemotherapy-induced toxicity / A. Aslani, R.C. Smith, B.J. Allen et al. // *Cancer*. – 2000. - Vol. 88 (4). – P. 796-803.
137. Azad, T.D. Therapeutic strategies to improve drug delivery across the blood-brain barrier / T.D. Azad, J. Pan, I.D. Connolly, et al. // *Neurosurg Focus*. – 2015. – Vol. 38 (3):E9. doi:10.317/2014.12.FOCUS14758.Review.
138. Baker, M.J. FTIR-based spectroscopic analysis in the identification of clinically aggressive prostate cancer / M.J. Baker, E. Gazi, M.D. Brown // *Br. J. Cancer*. – 2008. – Vol. 99 (11). – P. 1859-1866.
139. Baral, A. B7-H3 and B7-H1 expression in cerebral spinal fluid and tumor tissue correlates with the malignancy grade of glioma patients / A. Baral, H.X. Ye, P.C. Jiang // *Oncol. Lett.* – 2014. – Vol 8 (3). – P. 1195-1201.

140. Bellisola, G. Infrared spectroscopy and microscopy in cancer research and diagnosis Infrared spectroscopy and microscopy in cancer research and diagnosis / G. Bellisola, C. Sorio. // *Am. J. Cancer Res.* – 2012. – Vol. 2 (1). – P. 1-21.
141. Bernstein, M. *Neuro-Oncology. The essentials. Second edition* / M. Bernstein, M.S. Berger. – New York, 2008. – 460 p.
142. Best, MG¹. Liquid biopsies in patients with diffuse glioma /M.G. Best, N. Sol, S. Zijl et al. // *Acta Neuropathol.* - 2015. – Vol. 129 (6). – P. 849-865.
143. Bieza, A. Magnetic Resonance study on Fractional anisotropy and neuronal Metabolite Ratios in Peritumoral area of Cerebral gliomas / A. Bieza, G. Krumina // *Medicina (Kaunas).* – 2012. – Vol. 48 (10). – P. 497-506.
144. Bloch, O¹. Immunotherapy for malignant gliomas / O. Bloch // *Cancer Treat. Res.* -2015. –Vol. 163. – P. 143-158.
145. Bonza-Kibangou, P. Micrisoelectrofluorometry of autofluorescence emission from human leukemic cells under oxidative stress / P. Bonza-Kibangou, C. Millot, J. Dufer, et al. // *Biol. Cell.* – 2001. – V.93 (5). – P. 273-280.
146. Briviba, K. Toxic and signaling effects of photochemically or chemically generated singlet oxygen in biological systems / K. Briviba, L.O. Klotz, H. Sies // *Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 378 (11). – P. 1259-1265.
147. Calinescu, A.A. Overview of current immunotherapeutic strategies for glioma / A.A. Calinescu, N. Kamran, G. Baker // *Immunotherapy.* – 2015.- Vol. 7 (10). - P. 1073-104.
148. Chaichana, K.L. When gross total resection of a glioblastoma is possible, how much resection should be achieved? / K.L. Chaichana, E.E. Cabrera-Aldana, I. Jusue-Torres et al. // *World Neurosurg.* – 2014. – Vol. 82 (1-2). – P. 257-265.

149. Chao, C.C. Induction of neural differentiation in rat C6 glioma cells with taxol / C.C. Chao, D. Kan, T.H. Lo et al. // *Brain Behav.* – 2015. – Vol. 5 (12). - e00414.
150. Ghazi, A. Generation of polyclonal CMV-specific T cells for the adoptive immunotherapy of glioblastoma / A. Ghazi, A. Ashoori, P.J. Hanley et al. // *J. Immunother.* – 2012. – Vol. 35 (2). – P. 159-168.
151. Chen, T¹. Downregulation of microRNA-124 predicts poor prognosis in glioma patients / T. Chen, X.Y. Wang, C. Li, S.J. Xu // *Neurol Sci.* – 2015. – Vol. 36 (1). – P. 131-135.
152. Chen, X. Calcitriol enhances 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence and the effect of photodynamic therapy in human glioma / X. Chen, C. Wang, L. Teng et al. // *Acta Oncol.* – 2014. – Vol. 53 (3). – P. 405-413.
153. Chen, Y. Significance of serum neuron-specific enolase before treatment in predicting brain metastases and prognosis of advanced non-small cell lung cancer / Y. Chen, W. Peng, Y. Huang et al. // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* – 2015. – Vol. 37 (7). – P. 508-511.
154. Cheng, Y¹. Blood-brain barrier permeable gold nanoparticles: an efficient delivery platform for enhanced malignant gliomathrapy and imaging / Y. Cheng, Q. Dai, R.A. Morshed et al. // *Smal.* – 2014. – Vol. 10 (24). – P. 5137-5150.
155. Choucair, A.K.. Development of multiple lesions during radiation therapy and chemotherapy in patients with glioma / A.K. Choucair, V.A. Levin, P.H. Gutin et al. // *J. Neurosurg.* – 1986. – V. 65. – P. 654-658.
156. Chicoine, M.R. Assessment of brain tumor cells motility in vivo and in vitro / M.R. Chicoine, D. Silbergeld // *J. Neurosurg.* - 1995. – Vol. 82. – P. 615-622.
157. Cobbs, C.S. Manganese superoxide dismutase expression in human central nervous sistem tumors / C.S. Cobbs, D.S. Levi, K. Aldape et al. // *Cancer Res.* – 1996. – Vol. 56 (14). - 3192-3195.

158. Chaichana, K.L. Multiple resections for patients with glioblastoma: prolonging survival / K.L. Chaichana, P. Zadnik, J.D. Weingart et al. // J. Neurosurg. – 2013. – Vol. 118 (4). – P. 812–820.
159. Curran, W.J. Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials / W.J. Curran, C.D. Scott, J. Horton et al. // J. Natl Cancer Inst. – 1993. – Vol. 85 (9). – P. 704-710.
160. Daras, M. Tumor progression and transformation of low-grade glial tumors associated with pregnancy / M. Daras, C. Cone, K.B. Peters // J. Neurooncol. – 2014. – Vol. 116 (1). – P. 113-117.
161. Daumas-Duport, C. Histological grading of gliomas / C. Daumas-Duport // Curr. Opin. Neurol. Neurosurg. – 1992. – Vol.5. – P. 924-931.
162. Deng, Z. Quantitative analysis of glioma cell invasion by diffusion tensor imaging / Z. Deng, Y. Yan, D. Zhong et al. // J. Clin. Neurosci. – 2010. – Vol. 17. – P. 1530-1536.
163. Dixit, S. Immunotherapy for high-grade glioma / S. Dixit // Chin. J. Cancer. – 2014. – Vol. 33 (1). – P. 32-39.
164. Dong, Y. Glioma stem cells involved in tumor tissue remodeling in a xenograft model / Y. Dong, G. Zhang, G. Huang et al. // J. Neurosurg. — 2010. — Vol. 113 (2). — P. 249–260.
165. Dowling, C. Preoperative proton MR spectroscopic imaging of brain tumors: correlation with histopathologic analysis of resection specimens / C. Dowling, A.W. Bollen, S.M. et al. // AJNP Am. J. Neuroradiol. – 2001. – Vol. 22 (3). – P. 604-612.
166. Ensign, S.P. SGEF Is Regulated via TWEAK/Fn14/NF- κ B Signaling and Promotes Survival by Modulation of the DNA Repair Response to Temozolomide / S.P. Ensign, A. Roos, I.T. Mathews et al. // Mol. Cancer Res. – 2016. – Vol. 14 (3). – P. 302-312.

167. Fan, J. Migfilin sensitizes cisplatin-induced apoptosis in human glioma cells in vitro / J. Fan, Y.W. Ou, C.Y. Wu et al. // *Acta Pharmacol Sin.* – 2012. – Vol. 33 (10). – P. 1301-1310.
168. Fernández-Klett, F. The fibrotic scar in neurological disorders / F. Fernández-Klett, J. Priller // *Brain Pathol.* – 2014. – Vol. 24 (4). – P. 404-413.
169. Ferroli, P. Predicting functional impairment in brain tumor surgery: the Big Five and the Milan Complexity Scale / P. Ferroli, M. Broggi, S. Schiavolin et al. // *Neurosurg. Focus.* – 2015. – Vol. 39 (6). – P. 14.
170. Finocchiaro, G. Immunotherapy with dendritic cells loaded with glioblastoma stem cells: from preclinical to clinical studies / G. Finocchiaro, S. Pellegatta // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2016. - Vol. 65 (1). – P. 101-109.
171. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications / J. Folkman // *N. Engl. J. Med.* – 1971. – Vol.18 (21). – P. 1182-1186.
172. Friesen, C. Induction of CD95 ligand and apoptosis by doxorubicin is modulated by the redox state in chemosensitive- and drug-resistant tumor cells / C. Friesen, S. Fulda, K.M. Debatin // *Cell Death Differ.* – 1999. – Vol. 6 (5). – P. 471-480.
173. Gajjar, K. Fourier-transform infrared spectroscopy coupled with a classification machine for the analysis of blood plasma or serum: a novel diagnostic approach for ovarian cancer / K. Gajjar, J. Trevisan, G. Owens et al. // *Analyst.* – 2013. – Vol. 138 (14). – P. 3917-3926.
174. Galldiks, N. Response assessment of bevacizumab in patients with recurrent malignant glioma using [18F] Fluoroethyl-L-tyrosine PET in comparison to MRI / N. Galldiks, M. Rapp, G. Stoffels et al. // *Eur. J. Nucl. Med Mol Imaging.* – 2013. – Vol. 40 (1). – P. 22-33.
175. Garlapati, R.R. More accurate neuronavigation data provided by biomechanical modeling instead of rigid registration / R.R. Garlapati, A. Roy, G.R. Joldes et al. // *J. Neurosurg.* – 2014. – Vol. 120 (6). – P. 1477-1483.

176. Gescheit, I.M. Minimal-invasive thermal imaging of a malignant tumor: a simple model and algorithm / I.M. Gescheit, A. Dayan, M. Ben-David, I. Gannot // *Med. Phys.* – 2010. – Vol. 37 (1). – P. 211-216.
177. Giunti, L. Anti-miR21 oligonucleotide enhances chemosensitivity of T98G cell line to doxorubicin by inducing apoptosis / L. Giunti, M. Ros, S. Vinci et al. // *Am. J. Cancer Res.* – 2014. – Vol. 5 (1). – P. 231-242.
178. Gonzalez-Lopez, P. Efficacy of placing a thin layer of gelatin sponge over the subdural space during dural closure in preventing meningocerebral adhesion / P. Gonzalez-Lopez, M.V. Harput, H. Türe et al. // *World Neurosurg.* – 2015. – Vol. 83 (1). – P. 93-101.
179. Gorbach, A.M. Intraoperative infrared functional imaging of human brain / A.M. Gorbach, J.D. Heiss, C. Kufta et al. // *Ann. Neurol.* - 2003. – Vol. 54 (3). - P. 297-309.
180. Gorbach, A.M. Intraoperative infrared imaging of brain tumors / A.M. Gorbach, J.D. Heiss, L. Kopylev, E.H. Oldfield // *J. Neurosurg.* - 2004. - Vol. 101 (6). - P. 960.
181. Gray, L.H. The concentration of oxygen dissolved in irradiation as factor in radiotherapy / L.H. Gray, A.D. Conger, M. Ebert et al. // *Br. J. Radiol.* -1953. – Vol. 26. - P. 638-648.
182. Haberland, N. Neuronavigation in surgery of intracranial and spinal tumors / N. Haberland, K. Ebmeier, R. Hliscs et al. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2000. – Vol. 126. – P. 529-541.
183. Han, X. The role of Src family kinases in growth and migration of glioma stem cells/ X. Han, W. Zhang, X. Yang et al. // *Int J Oncol.* – 2014. – Vol. 45 (1). – P. 302-310.
184. Hands, J.R. Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared(ATR-FTIR) spectral discrimination of brain tumour severity from serum samples / J.R. Hands, K.M. Dorling, P. Abel et al. // *J. Biophotonics* 2014. – Vol. 7 (3-4). – P. 189-199.

185. Hands, J.R. Brain tumour differentiation: rapid stratified serum diagnostics via attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy / J.R. Hands, G. Clemens, R. Stables et al. // *J. Neurooncol.* – 2016. – Vol.127. – P. 463–472.
186. Hands, J.R. Investigating the rapid diagnosis of gliomas from serum samples using infrared spectroscopy and cytokine and angiogenesis factors / J.R. Hands, P.K. Abel, Ashton et al. // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2013. – Vol. 405 (23). – P. 7347-7355.
187. Hdeib, A. Dendritic cell immunotherapy for solid tumors: evaluation of the DCVax® platform in the treatment of glioblastoma multiforme / A. Hdeib, A.E. Sloan et al. // *CNS Oncol.* – 2015. – Vol. 4 (2). – P. 63-69.
188. He, W. Chemotherapeutic effect of tamoxifen on temozolomide-resistant gliomas / He W¹, Liu R, Yang SH, Yuan F. // *Anticancer Drugs.* – 2015. – Vol. 26 (3). – P. 293-300.
189. Healy, AT. Convection-enhanced drug delivery for gliomas / A.T. Healy, M.A. Vogelbaum // *Surg. Neurol. Int.* – 2015. – Vol. 13 (1). – P. 59-67.
190. Heath, W.R. Crosspresentation, dendritic cell subsets, and the generation of immunity to cellular antigens / W.R. Heath, G.T. Belz, G.M. Behrens et al. // *Immunol. Rev.* – 2004. – Vol. 199. – P. 9–26.
191. Heimberger, A.B. Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with tumor homogenate induce immunity against syngeneic intracerebral glioma / A.B. Heimberger, L.E. Crotty, G.E. Archer et al. // *J. Neuroimmunol.* – 2000. – Vol.103. – P. 16-25.
192. Hendricks, B.K. Novel delivery methods bypassing the blood-brain and blood-tumor barriers / B.K. Hendricks, A.A. Cohen-Gadol, J.C. Miller // *Neurosurg. Focus.* – 2015. – Vol. 38 (3). – E10. doi: 10.3171/2015.1.FOCUS14767.
193. Hochberg, F.H. High-dose BCNU with autologous bone marrow rescue for recurrent glioblastoma multiforme / F.H. Hochberg, L.M.

- Parker, T. Takvorian et al. // J Neurosurg. – 1981. – Vol. 54 (4). – P. 455-460.
194. Hohberg, F. Treatment of recurrent malignant glioma with BCNU-fluosol and oxygen inhalation. A phase I-II study / F. Hohberg, M. Prados, C. Russell et al. // J. Neurooncol. - 1997. – Vol. 32 (1). – P. 45-55.
 195. Hottinger, A.F. Standards of care and novel approaches in the management of glioblastoma multiforme / Hottinger AF1, Stupp R, Homicsko K. // Chin. J. Cancer. – 2014. – Vol. – 33 (1). – P. 32-39.
 196. Hu, Y. Overexpression of TIP30 inhibits the growth and invasion of glioma cells / Y. Hu, F. Chen, F. Liu et al. // Mol. Med. Rep. – 2016. – Vol. 13 (1). – P. 605-612.
 197. Inaba, T. Indoleamine 2,3-dioxygenase expression predicts impaired survival of invasive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy / T. Inaba, K. Ino, H. Kajiyama et al. //Gynecol. Oncol. – 2010. – Vol. 117. – P. 423– 428.
 198. Ishii, A. Histological Characterization of the Tumorigenic "Peri-Necrotic Niche" Harboring Quiescent Stem-Like Tumor Cells in Glioblastoma / A. Ishii, T. Kimura, H. Sadahiro et al. // PLoS One. – 2016. – Vol. 11 (1). - e0147366. doi: 10.1371.
 199. Iwamoto, F.M¹. Unveiling YKL-40, from Serum Marker to Target Therapy in Glioblastoma / F. Iwamoto, A. Hormigo // Front Oncol. – 2014. – Vol. 28 (4). – P. 90. doi: 10.3389/fonc
 200. Jackson, S. The effect of regadenoson-induced transient disruption of the blood-brain barrier on temozolomide delivery to normal rat brain / S. Jackson, N.V. Anders, A. Mangraviti et al. // J Neurooncol. – 2016. – Vol. 126 (3). – P. 433-439.
 201. Joseph, J.V. Hypoxia enhances migration and invasion in glioblastoma by promoting a mesenchymal shift mediated by the HIF1 α -ZEB1 axis / J.V. Joseph, S. Conroy, K. Pavlov et al. // Cancer Lett. – 2015. – Vol. 359 (1). – P. 107-116.

202. Jovčevska, I. Glioma and glioblastoma - how much do we (not) know? / I. Jovčevska, N. Kočevar, R. Komel // Mol. Clin. Oncol. – 2013. – Vol. 1 (6). – P. 935-941.
203. Jung, C.S. Serum GFAP is a diagnostic marker for glioblastoma multiforme / C.S. Jung, C. Foerch, A. Schanzer et al. // Brain. – 2007. - Vol. 130. – P. 3336-3341.
204. Juratli, T.A. Current status of local therapy in malignant gliomas--a clinical review of three selected approaches / T.A. Juratli, G. Schackert, D. Krex // Pharmacol. Ther. – 2013. – Vol. 139 (3). – P. 341-358.
205. Karatağ, O. Can magnetic resonance spectroscopy adequately differentiate neoplastic from non-neoplastic and low-grade from high-grade lesions in brain masses? / O. Karatağ, G.Y. Karatağ, E. Uysal et al. // Marmara Med. J.. – 2010 – Vol. 23 (3). – P. 326-338.
206. Katakowski, M. Exosomes as Tools to Suppress Primary Brain Tumor / M. Katakowski, M. Chopp // Cell Mol. Neurobiol. – 2016. – Vol. 36 (3). – P. 343-352.
207. Kateb, B. Infrared thermal imaging: a review of the literature and case report / B. Kateb, V. Yamamoto, C. Yu, W. Grundfest, J.P. Gruen // Neuroimage. – 2009. – Vol. 47 (2). – P. 154-162.
208. Kazakova, M.H. Protein and mRNA levels of YKL-40 in high-grade glioma / M.H. Kazakova, D.N. Staneva, I.G. Koev et al. // Folia Biol (Praha). – 2014. – Vol. 60 (6). – P. 261-267.
209. Kazarian, S.G. ATR-FTIR spectroscopic imaging: recent advances and applications to biological system / S.G. Kazarian, K.L. Chan // Analyst. – 2013. – Vol. 138 (7). –P. 1940-1951.
210. Karaszewski, B. Measurement of brain temperature with magnetic resonance spectroscopy in acute ischemic stroke / B. Karaszewski, J.M. Wardlaw, I. Marshall et al. // Ann. Neurol. - 2006. – Vol. 60 (4). – P. 438-446.
211. Keener, E.B. Regeneration of dural defects; a review / E.B. Keener //J. Neurosurg. – 1959. – Vol. 16 (4). – P. 415-423.

212. Keles, G.E. The effect of extent of resection on time to tumor progression and survival in patients with glioblastoma multiforme of the cerebral hemisphere / G.E. Keles, B. Anderson, M.S. Berger // *Surg. Neurol.* - 1999.- Vol. 52. – P. 371 – 379,
213. Kessel, D. Porphyrin photosensitization of multi-drug resistant cell types / D. Kessel, C. Erickson // *PhotochemPhotobiol.* – 1992. – Vol. 55. – P. 397-399.
214. Kim, J.H. 3T 1H-MR Spectroscopy in Grading of Cerebral Gliomas: Comparison of Short and Intermediate Echo Time Sequences / J.H. Kim, K.H. Chang, D.G. Na et al. // *Am. J. Neuroradiol.* – 2006. – Vol. 27 (7). – P. 1412-1418.
215. Kim, S.S. Biliverdin reductase plays a crucial role in hypoxia-induced chemoresistance in human glioblastoma / S.S. Kim, S. Seong, S.H. Lim, S.Y. Kim // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* -2013. – Vol. 440 (4). – P. 658-663.
216. Kindy, M.S. A therapeutic cancer vaccine against GL261 murine glioma / M.S. Kindy, J. Yu, H. Zhu et al. // *J. Transl. Med.* – 2016. – Vol. 14 (1):1. doi: 10.1186/s12967-015-0757-9.
217. Kızıltan, H.Ş. Medical ozone and radiotherapy in a peritoneal, Erlich-ascites, tumor-cell model / H.S. Kızıltan, A.G. Bayir, G. Yucesan et al. // *Altern. Ther. Health Med.* – 2015. Vol. 21 (2). – P. 24-29.
218. Kostron, H. Combination of ‘FOSCAN’ mediated fluorescence guided resection and photodynamic treatment as new therapeutic concept for malignant brain tumors / H. Kostron, T. Fiegele, E. Akatuna // *Medical Laser Application.* – 2006. – Vol. 21. – P. 285-290.
219. Kostron, H. Management of recurrent malignant glioma-neurosurgical strategies / H. Kostron, R. Bauer // *Wien Med. Wochenschr.* – 2011. – Vol. 161 (1-2). – P. 20-21.
220. Kostron, H. Photodynamic diagnosis and therapy and the brain / H. Kostron // *Methods Mol Biol.* – 2010. – Vol. 635. – P. 261-280.

221. Krafft, C. Analysis of human brain tissue, brain tumors and tumor cells by infrared spectroscopic mapping / C. Krafft, S.B. Sobottka, G. Schackert, R. Salzer // *Analyst.* – 2004. – Vol. 129 (10). – P. 921—925.
222. Krafft, C. Classification of malignant gliomas by infrared spectroscopy and linear discriminant analysis / C. Krafft, K. Thümmeler, S.B. Sobottka et al. // *Biopolymers.* – 2006. – Vol. 82 (4). – P. 301-305.
223. Krafft, C. Classification of malignant gliomas by infrared spectroscopic imaging and linear discriminant analysis / C. Krafft, S.B. Sobottka, K.D. Geiger et al. // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2007. – Vol. 387 (5). – P. 1669-1677.
224. Kros, J.M. Circulating glioma biomarkers / J.M. Kros, D.M. Mustafa, L.J. Dekker et al. // *Neuro Oncol.* – 2015. – Vol. 17 (3). – P. 343-360.
225. Krishna, C.M. Characterisation of uterine sarcoma cell lines exhibiting MDR phenotype by vibrational spectroscopy / C.M. Krishna, G. Kegelaer, I. Adt et al. // *Biochim. et Biophys. Acta.* – 2005. – Vol. 1726 (2). – P. 160 – 167.
226. Kwon, S.M. Recurrent Glioblastomas Reveal Molecular Subtypes Associated with Mechanistic Implications of Drug-Resistance / S.M. Kwon, S.H. Kang, C.K. Park et al. // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10 (10):e0140528. doi: 10.1371
227. Lai, N.S. MicroRNA-210 overexpression predicts poorer prognosis in glioma patients / N.S. Lai, Q.S. Dong, H. Ding et al. // *J. Clin. Neurosci.* – 2014.- Vol. 21 (5). – P. 755-760.
228. Lamano, J.B. Immunomonitoring in glioma immunotherapy: current status and future perspectives / J.B. Lamano, L. Ampie, W. Choy et al. // *J. Neurooncol.* – 2016. – Vol. 127 (1). – P. 1-13.

229. Lange, R.P. Evaluation of eight plasma proteins as candidate blood-based biomarkers for malignant gliomas / R.P. Lange, A. Everett, P. Dulloor et al. // *Cancer Invest.* – 2014. – Vol. 32 (8). – P. 423-429.
230. Lau, D. Molecularly targeted therapies for recurrent glioblastoma: current and future targets / D. Lau, S.T. Magill, M.K. Aghi // *Neurosurg Focus.* – 2014. – Vol. 37 (6). - E15. doi: 10.3171/2014.9.FOCUS14519.
231. Lemée, J.M. Characterizing the peritumoral brain zone in glioblastoma: a multidisciplinary analysis / J.W. Lemée, A. Clavreul, M. Aubry et al. // *J. Neurooncol.* – 2015. – Vol. 122 (1). – P. 53-61.
232. Lee, D. MicroRNA-210 and Endoplasmic Reticulum Chaperones in the Regulation of Chemoresistance in Glioblastoma / D. Lee, S. Sun, X.Q. Zhang et al. // *J. Cancer.* – 2015. – Vol. 6 (3). – P. 227-232.
233. Lee, D. Hyperoxia resensitizes chemoresistant glioblastoma cells to temozolomide through unfolded protein response / D. Lee, S. Sun, A.S. Ho et al. // *Anticancer Res.* – 2014. – Vol. 34 (6). – P. 2957-2966.
234. Li, B.T. Serum Biomarkers Associated with Clinical Outcomes Fail to Predict Brain Metastases in Patients with Stage IV Non-Small Cell Lung Cancers / B.T. Li, E. Lou, M. Hsu et al. // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11 (1):e0146063. doi: 10.1371.
- Li, V.W. Microvessel count and cerebrospinal fluid basic fibroblast growth factor in children with brain tumour / V.W. Li, R.D. Folkerth, H. Watanabe et al. // *Lancet.* – 1994. – Vol. 9 (8915). – P. 82-86.
235. Li, Y.M. The influence of maximum safe resection of glioblastoma on survival in 1229 patients: Can we do better than gross-total resection? / Y.M. Li, D. Suki, K. Hess, R. Sawaya // *J. Neurosurg.* – 2016. – Vol. 124 (4). – P. 977-988.
236. Liang, B.C. Effects of Hypoxia on drug resistance phenotype and genotype in human glioma cell lines / B.C. Liang // *J. Neurooncol.* – 1996. – Vol. 29 (2). – P. 149-155.

237. Liebelt, B.D. Glioma Stem Cells: Signaling, Microenvironment, and Therapy / B.D. Liebelt, T. Shingu, X. Zhou et al. // *Stem Cells Int.* - 2016:7849890. doi: 10.1155/2016/7849890.
238. Louis, D.N. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary / D.N. Louis, A. Perry, G. Reifenberger et al. // *Acta Neuropathol.* – 2016. – Vol. 131 (6).- P. 803-820.
239. Loureiro, L.V. Minimizing the uncertainties regarding the effects of delaying radiotherapy for Glioblastoma: A systematic review and meta-analysis / L.V. Loureiro, E.D. Victor, D. Callegaro-Filho et al. // *Radiother Oncol.* – 2015. - Vol. 118 (1). – P. 1-8.
240. Madhusoodanan, S. Psychiatric aspects of brain tumors: a review / S. Madhusoodanan, B. Ting, T. Farah // *World J. Psychiatry.* – 2015. – Vol. 5 (3). – P. 273-285.
241. Man, J. Hyperthermia Sensitizes Glioma Stem-like Cells to Radiation by Inhibiting AKT Signaling / J. Man, J.D. Shoemake, T. Ma et al. // *Cancer Res.* – 2015. – Vol. 75 (8). – P. 1760-1769.
242. Mariappan, R. Serum lactate as a potential biomarker of malignancy in primary adult brain tumours / R. Mariappan, L. Venkatraghavan, A. Vertania et al. // *J. Clin. Neurosci.* – 2015. – Vol. 22 (1). – P. 144-148.
243. Marko, N.F. Extent of resection of glioblastoma revisited: personalized survival modeling facilitates more accurate survival prediction and supports a maximum-safe-resection approach to surgery / N.F. Marko, R.J. Weil, J.L. Schroeder et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32 (8). – P. 774-782.
244. Marucci, G. Pathological spectrum in recurrences of glioblastoma multiforme / Marucci G, Fabbri PV, Morandi L, et al. *Pathologica.* – 2015. – Vol. 107(1). – P. 1-8.
245. Matsukado, K. Selective increase in blood-tumor barrier permeability by calcium antagonists in transplanted rat brain tumors / K. Matsukado, T.

- Nomura, K. Ikezaki, M. Fukui // *Acta Neurochir. Suppl. (Wien)*. – 1994. – Vol. 60. – P. 403-405.
246. Maurya, S.K. Cypermethrin induces astrocyte damage: role of aberrant Ca(2+), ROS, JNK, P38, matrix metalloproteinase 2 and migration related reelin protein / S.K. Maurya, J. Mishra, V.K. Tripathi et al. // *Pestic Biochem. Physiol.* – 2014. – Vol. 111. – P. 51-59.
247. Meade, A.D. Growth substrate induced functional changes elucidated by FTIR and Raman spectroscopy in in-vitro cultured human keratinocytes / A.D. Meade, F. Lyng, P. Knief, H.J. Byrne // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2007. – Vol. 387. – P. 1717–1728.
248. Messaoudi, K. Toward an effective strategy in glioblastoma treatment. Part I: resistance mechanisms and strategies to overcome resistance of glioblastoma to temozolomide / Messaoudi K¹, Clavreul A¹, Lagarce F // *Drug Discov. Today*. – 2015. – Vol. 20 (7). – P. 899-905.
249. Meyer, T.E. Changes in glutathione redox cycling and oxidative stress response in the malignant progression of NB2 lymphoma cells / T.E. Meyer, H.Q. Liang, D.J. Buckley et al. // *Int. J. Cancer*. - 1998. – Vol. 77 (1). – P. 55-63.
250. Minniti, G. IDH1 mutation and MGMT methylation status predict survival in patients with anaplastic astrocytoma treated with temozolomide-based chemoradiotherapy / G. Minniti, C/ Scaringi, A/ Arcella, et al. // *J. Neurooncol.* – 2014. - Vol. 118 (2). – P. 377-383.
251. Mirbahai, L. Lipid biomarkers of glioma cell growth arrest and cell death detected by 1 H magic angle spinning MRS / L. Mirbahai, M. Wilson, C/S/ Shaw et al. // *NMR Biomed.* – 2012. – Vol. 25 (11). – P. 1253-1262.
252. Mören, L. Metabolomic Screening of Tumor Tissue and Serum in Glioma Patients Reveals Diagnostic and Prognostic Information / L. Mören, A.T. Bergenheim, S. Ghasimi et al. // *Metabolites*. – 2015. – Vol. 5 (3). – P. 502-520.

253. Movasaghi, Z. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues / Z. Movasaghi, S. Rehman, I. Rehman // *Applied Spectroscopy Reviews*. – 2008. – Vol. 43. – P. 134–179.
254. Mroz, P. Combination of PDT and a DNA demethylating agent produces anti-tumor immune response in a mouse tumor model / P. Mroz, M.R. Hamblin // *Proc SPIE*. – 2009. – Vol. 7380. – P. 73801-73809.
255. Muller, PJ. Photodynamic therapy of brain tumors – a work in progress / P.J. Muller, B.C. Wilson // *Lasers Surg. Med.* – 2006. – Vol. 38 (5) – P. 384-389.
256. Muragaki, Y. Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors / Y. Muragaki, J. Akimoto, T. Maruyama et al. // *J. Neurosurg.* – 2013. – Vol. 119 (4). – P. 845-852.
257. Nakano, S. Increased brain tumor microvessel permeability after intracarotid bradykinin infusion is mediated by nitric oxide / S. Nakano, K. Matsukado, K.L. Black // *Cancer Res.* - 1996. – Vol. 56 (17). – P. 4027 – 4031.
258. Napolitano, M. Glioblastoma surgery with and without intraoperative MRI at 3.0T / M. Napolitano, G. Vaz, T. Lawson et al. // *Neurochirurgie*. – 2014. – Vol. 60 (4). – P. 143-150.
259. Nava, S. Safe and Reproducible Preparation of Functional Dendritic Cells for Immunotherapy in Glioblastoma Patients / S. Nava, D. Lisini, S. Pogliani et al. // *Stem Cells Transl. Med.* – 2015. - Vol. 4 (10). – P. 1164-1172.
260. Nieder, C. Tumor marker analyses in patients with brain metastases: patterns of practice and implications for survival prediction research / C. Nieder, A. Dalhaug, E. Haukland et al. // *Tumour Biol.* – 2015. – Vol. 36 (8). – P. 6471-6476.
261. Noreen, R. Detection of collagens in brain tumors based on FTIR imaging and chemometrics / R. Noreen, C.C. Chien, M. Delugin et al. // *Anal Bioanal Chem.* – 2011. – Vol. 401 (3). – P. 845-852.

262. Okada, R. Cathepsin D deficiency induces oxidative damage in brain pericytes and impairs the blood-brain barrier / R. Okada, Z. Wu, A. Zhu et al. // *Mol. Cell Neurosci.* – 2015. – Vol. 64. – P. 51-60.
263. Okonogi, N. Topics in chemotherapy, molecular-targeted therapy, and immunotherapy for newly-diagnosed glioblastoma multiforme / N. Okonogi, K. Shirai, T. Oike et al. // *Anticancer Res.* – 2015. – Vol 35 (3). – P. 1229-1235.
264. Ortega, A. Multiple resections and survival of recurrent glioblastoma patients in the temozolomide era / A. Ortega, J.M. Sarmiento, D. Ly et al. // *J Clin Neurosci.* – 2016. – Vol. 24. – P. 105-111.
265. Ostrom, QT. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012 / Q.T. Ostrom, H. Gittleman, C. Fulop et al. // *J. Neuro Oncol.* – 2015. – Vol. 17 Suppl 4:iv1-iv62. doi: 10.1093/neuonc/nov189.
266. Oszvald, Al. Glioblastoma therapy in the elderly and the importance of the extent of resection regardless of age / A . Oszvald // *J. Neurosurg.* – 2012. – Vol. 116 (2). – P. 357–364.
267. Ozawa, T. Radiopotential of human brain tumor cells by sodium phenylacetate / T. Ozawa., R.M. Lu, L.J. Hu et al. // *Cancer Lett.* - 1999. – Vol. – 142 (2). – P. 139-146.
268. Pérez, A. Ozone Dosage Effect on C6 Cell Growth: in Vitro and in Vivo Tests / A. Pérez, C.L. Santos Cuevas, I. Chairez et al. // *Anticancer Agents Med Chem.* – 2015. – Vol. 15 (9). – P. 1190-1196.
269. Perez-Janices, N. EPB41L3, TSP-1 and RASSF2 as new clinically relevant prognostic biomarkers in diffuse gliomas / N. Perez-Janices, I. Blanco-Luquin, M. Teresa Tuñón et al. // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6 (1). – P. 368–380.
270. Perry, J. Novel Therapies in Glioblastoma /J. Perry, M. Okamoto, M. Guiou et al. // *Neurol. Res. Int.* - 2012: 428565. doi: 10.1155/2012/428565
271. Peschillo, S. New therapeutic strategies regarding endovascular treatment of glioblastoma, the role of the blood-brain barrier and new ways

- to bypass it / S. Peschillo, A. Caporlingua, F. Diana et al. // J. Neurointerv Surg. – 2015. – Vol. 5. pii: neurintsurg-2015-012048. doi: 10.1136/neurintsurg-2015-012048.
272. Petrich, W. Potential of mid-infrared spectroscopy to aid the triage of patients with acute chest pain / W. Petrich, K.B. Lewandrowski, J.B. Muhlestein et al. // *Analyst*. – 2009. – Vol. 134 (6). – P. 1092-1098.
 273. Phillips, P.C. Antineoplastic drug resistance in brain tumor / P.C. Phillips // *Neurol. Clin.* - 1991. – Vol. 9 (2). – P. 383-404.
 274. Pogue, B.W. Photodynamic therapy with verteporfin in the radiation-induced fibrosarcoma-1 tumor causes enhanced radiation sensitivity / B.W. Pogue, J.A. O'Hara, E. Demidenko et al. // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63. – P. 1025-1033.
 275. Polyzoidis, S. Active dendritic cell immunotherapy for glioblastoma: Current status and challenges / S. Polyzoidis, J. Tuazon, L. Brazil et al. // *Br J. Neurosurg.* – 2015. – Vol. 29 (2). – P. 197-205.
 276. Popescu, I.D. Potential serum biomarkers for glioblastoma diagnostic assessed by proteomic approaches / I.D. Popescu, E. Codrici, L. Albuлесcu et al. // *Proteome Sci.* – 2014. – Vol. 12 (1). – P. 47. doi: 10.1186/s12953-014-0047-0.
 277. Poschmann, G. Redox proteomics reveal stress responsive proteins linking peroxiredoxin-1 status in glioma to chemosensitivity and oxidative stress // G. Poschmann, M. Grzendowski, A. Stefanski et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2015. – Vol. 1854 (6). – P. 624-631.
 278. Quirk, B.J. Photodynamic therapy (PDT) for malignant brain tumors--where do we stand? / B.J. Quirk, G. Brandal, S. Donlon et al. // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2015. – Vol. 12 (3). – P. 530-544.
 279. Radoja, S. Mice bearing late-stage tumors have normal functional systemic T cell responses in vitro and in vivo / S. Radoja, T.D. Rao, D. Hillman, A.B. Frey // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164 (5). – P. 2619-2628.
 280. Rao, A. A combinatorial radiographic phenotype may stratify patient survival and be associated with invasion and proliferation characteristics

- in glioblastoma / A. Rao, G. Rao, D.A. Gutman et al. // J. Neurosurg. – 2016. – Vol. 124 (4). – P. 1008-1017.
281. Rees, J.H. Diagnosis and treatment in neuro-oncology: an oncological perspective / J.H. Rees // Br. J. Radiol. – 2011. – Vol. 84 (2). – P. 82-89.
282. Roder, C. Maximizing the extent of resection and survival benefit of patients in glioblastoma surgery: high-field iMRI versus conventional and 5-ALA-assisted surgery / C. Roder, S. Bisdas, F.H. Ebner et al. // Eur. J. Surg Oncol. – 2014. – Vol. 40 (3). – P. 297-304.
283. Rodrigues, S.F. Blood cells and endothelial barrier function / S.F. Rodrigues, D.N. Granger // Tissue Barriers. – 2015. – Vol. 3 (1-2)e978720. doi: 10.4161/21688370.2014.978720.
284. Roelke, U. PET in neuro-oncology / U. Roelke, K.L. Leenders // J. Cancer Res. Clin. Oncol. - 2001. – Vol. 127 (1). – P. 2-8.
285. Rollet-Labelle, E. Hydroxyl radical as a potential intracellular mediator of polymorphonuclear neutrophil apoptosis / E. Rollet-Labelle, M.J. Grange, C. Elbim et al. // Free Radic Biol Med. – 1998. – Vol. 24 (4). – P. 563-572.
286. Rønning, PA. The effect of pregnancy on survival in a low-grade glioma cohort / P.A. Rønning, E. Helseth, T.R. Meling // J Neurosurg. – 2016. – Vol. 1. - P. 1-8.
287. Rosenthal, M.A. Promising survival in patients with high-grade gliomas following therapy with a novel boronated porphyrin / M.A. Rosenthal, B. Kavar, S. Uren et al. // J. Clin. Neuroscience. – 2003. Vol. 10 . – P. 425-427.
288. Rossmann, A. Intraperitoneal oxidative stress in rabbits with papillomavirus-associated head and neck cancer induces tumoricidal immune response that is adoptively transferable / A. Rossmann, R. Mandic, J. Heinis et al. // Clin Cancer Res. – 2014. – Vol. 20 (16). – P. 4289-301.

289. Saito, T. Intraoperative Functional Mapping and Monitoring during Glioma Surgery / T. Saito, Y. Muragaki, T. Maruyama et al. // *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. – 2015. – Vol. 55 (1). – P. 1-13.
290. Sampson, J.H. Is cytomegalovirus a therapeutic target in glioblastoma? / J.H. Sampson, D.A. Mitchell // *Clin Cancer Res.* - 2011. – Vol. 17 (14). – P. 4619-4621.
291. Shalaby, T. Tumor-Associated CSF MicroRNAs for the Prediction and Evaluation of CNS Malignancies / T. Shalaby, M.A. Grotzer // *Int. J. Mol Sci.* – 2015. – Vol. 16 (12). – P. 29103-29119.
292. Schwartzbaum, J. Association between Prediagnostic Allergy-Related Serum Cytokines and Glioma / J. Schwartzbaum, M. Seweryn, C. Holloman et al. // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10 (9):e0137503. doi: 10.1371.
293. Shamir, R.R. Fiducial optimization for minimal target registration error in image-guided neurosurgery / R.R. Shamir, L. Joskowicz, Y. Shoshan // *IEEE Trans. Med. Imaging*. – 2012. – Vol. 31. – P. 725-737.
294. Shan, Y. Role of IL-6 in the invasiveness and prognosis of glioma / Y. Shan, X. He, W. Song et al. // *Int J Clin Exp Med*. – 2015. – Vol. 8 (6). – P. 9114-9120.
295. Shi, R. Exosomal levels of miRNA-21 from cerebrospinal fluids associated with poor prognosis and tumor recurrence of glioma patients / R. Shi, P.Y. Wang, X.Y. Li et al. // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6 (29). – P. 26971-2681.
296. Shibui, S. Present status and future prospects of multi-disciplinary therapy for malignant gliomas / S. Shibui // *Gan To Kagaku Ryoho*. – 2013. – Vol. 40 (10). – P. 1274-1277.
297. Shinoda, J. Selection of eligible patients with supratentorial glioblastoma multiforme for gross total resection / J. Shinoda, N. Sakai, S. Murase et al. // *J. Neurooncol*. – 2001. – Vol. 52. – P. 161 – 171.
298. Singh, B. Fourier transform infraredmicrospectroscopy identifies protein propionylation in histone deacetylase inhibitor treated glioma cells /

- B. Singh, S. Boopathy, K. Somasundaram, S. Umapathy // J. Biophotonics. – 2012. – Vol. 5 (3). – P. 230-239.
299. Sinha, A.K. Methotrexate used in combination with aminolaevulinic acid for photodynamic killing of prostate cancer cells / A.K. Sinha, S. Anand, B.J. Ortel et al. // Br. J. Cancer. – 2006. – Vol. 95. – P. 485-495.
 300. Sørensen, M.D. Chemoresistance and chemotherapy targeting stem-like cells in malignant glioma / M.D. Sørensen, S. Fosmark, S. Hellwege et al. // Adv. Exp. Med. Biol. – 2015. – Vol. 853. – P. 111-138.
 301. Steiner, G. Distinguishing and grading human gliomas by IR spectroscopy / G. Steiner, A. Shaw, L.P. Choo-Smith et al. // Biopolymers. – 2003. – Vol. 72 (6). – P. 464-471.
 302. Steiner, G. Intraoperative imaging of cortical cerebral perfusion by time-resolved thermography and multivariate data analysis / G. Steiner, S.B. Sobottka, E. Koch et al. // J. Biomed. Optics. – 2011. – Vol. 16 (1). - P. 16001-16006.
 303. Stelling, A.L. Infrared spectroscopic studies of cells and tissues: triple helix proteins as a potential biomarker for tumors / A.L. Stelling, D. Toher, O. Uckermann et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8(3). - e58332. doi: 10.1371.
 304. Steinman, R.M. Dendritic cell function in vivo during the steady state: a role in peripheral tolerance / R.M. Steinman, D. Hawiger, K. Liu et al. // Ann. NY Acad. Sci. - 2003. – Vol. 987. – P. 15–25.
 305. Stockhausen, M.T. Differentiation of glioblastoma multiforme stem-like cells leads to downregulation of EGFR and EGFRvIII and decreased tumorigenic and stem-like cell potential / M.T. Stockhausen, K. Kristoffersen, L. Stobbe et al. // Cancer Biol. Ther. – 2014. - Vol. 15 (2). – P. 216-224.
 306. Strowd, R.E. The role of temozolomide in the management of patients with newly diagnosed anaplastic astrocytoma: a comparison of survival in the era prior to and following the availability of temozolomide / Strowd,

- R.E., Abuali I², Ye X³, et al. //J. Neurooncol. – 2016. – Vol. 127(1). – P. 165-71.
307. Sturrock, M. A mathematical model of pre-diagnostic glioma growth / M. Sturrock, W. Hao, J. Schwartzbaum et al. // J. Theor. Biol. – 2015. – Vol. 380. – P. 299-308.
308. Stylli, S.S. Photodynamic therapy of high grade glioma – long term survival / S.S. Stylli, A.H. Kaye, L. MacGregor et al. // J. Clin. Neuroscience. – 2005. – Vol. 12. – P. 389-398.
309. Sun, J. Serum microRNA-128 as a biomarker for diagnosis of glioma / J. Sun, K. Liao, X. Wu et al. // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2015. Vol. 8 (1). 456-463.
310. Sun, T. An integrative view on sex differences in brain tumors / T. Sun, A. Plutynski, S. Ward, J.B. Rubin // Cell Mol. Life Sci. – 2015. – Vol. 72 (17). – P. 3323-3342.
311. Sun, T. Sexually dimorphic RB inactivation underlies mesenchymal glioblastoma prevalence in males / T. Sun, N.M. Warrington, J. Luo et al. // J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 124 (9). – P. 4123-4133.
312. Sun, W. Knockdown of TMEM45A inhibits the proliferation, migration and invasion of glioma cells / W. Sun, G. Qiu, Y. Zou et al. // Int J Clin. Exp. Pathol. – 2015. – Vol. 8 (10). – P. 12657-12667.
313. Sur, B.W. Immunophototherapy Using PDT Combined with Rapid Intratumoral Dendritic Cell Injection / B.W. Sur, P. Vguyen, C.H. Sun., et al. // Photochem. Phobiol. – 2008. – Vol. 84. (5). – P. 1257-1264.
314. Sweet, F. Ozone selectively inhibits growth of human cancer cells / F. Sweet, M.S. Kao, S.C. Lee et al. // Science. – 1980. – Vol. 209 (4459). – P. 931-933.
315. Talayev, V. Yu. The effect of human placenta cytotrophoblast cells on the maturation and T cell stimulating ability of dendritic cells in vitro / V. Yu. Talayev, A.V. Matveichev, M. A. Lomunova et al. // Clin. Experim. Immunol. – 2010. - Vol. 162 (1). – P.91–99.
316. Tang, C. Gene mutation profiling of primary glioblastoma through multiple tumor biopsy guided by 1H-magnetic resonance spectroscopy / C.

- Tang, J. Guo, H. Chen et al. // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. - Vol. 8 (5). – P. 5327-5335.
317. Teicher, B.A. Effect of hemoglobin solution on the response of intracranial and subcutaneous 9L tumors to antitumor alkylating agents / B.A. Teicher, S.A. Holden, K. Menon et al.// *Cancer Chemother. Pharmacol.* - 1993. – Vol. 33 (1). – P. 57-62.
318. Tellingn, O. Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment / O. Tellingn, B. Yetkin-Arik, de M.C. Gooijer et al. // *Drug Resist Updat.* – 2015. – Vol. 19. – P. 1-12.
319. Terés, S. 2-Hydroxyoleate, a nontoxic membrane binding anticancer drug, induces glioma cell differentiation and autophagy / S. Terés, V. Lladó, M. Higuera et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2012. – Vol. 109 (22). – P. 8489-8494.
320. Thumanu, K. Diagnosis of liver cancer from blood sera using FTIR microspectroscopy: a preliminary study / K. Thumanu, S. Sangrajang, T. Khuhaprema et al. // *J. Biophotonics.* - 2014. – Vol. 7 (3-4). – P. 222-231.
321. Tichy, J. Prospective evaluation of serum glial fibrillary acidic protein (GFAP) as a diagnostic marker for glioblastoma / J. Tichy, S. Spechtmeyer, M. Mittelbronn et al. // *J. Neuro-Oncology.* – 2015. – Vol. 30. – P. 1-9.
322. Tumilson, C.A. Circulating microRNA biomarkers for glioma and predicting response to therapy / C.A. Tumilson, R.W. Lea, J.F. Alder, L. Shaw // *Mol. Neurobiol.* – 2014. – Vol. 50 (2). – P. 545-558.
323. Varma, A.K. Cranial neuropathies after intracranial Photofrin-photodynamic therapy for malignant supratentorial gliomas-a report on 3 cases / A.K. Varma, P.J. Muller // *Surg. Neurol.* – 2008. – Vol. 70 (2). – P. 190-193.
324. Wang, M.N. Classification and analysis of the errors in neuronavigation / M.N. Wang, Z.J. Song // *Neurosurgery.* – 2011. – Vol. 68 (4). – P. 1131-1143.

325. Wang, Q. Plasma specific miRNAs as predictive biomarkers for diagnosis and prognosis of glioma / Q. Wang, P. Li, A. Li et al. // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2012. – Vol. 31. – P. 97. doi: 10.1186/1756-9966-31-97.
326. Wang, X. Photodynamic Therapy-Induced Apoptosis of Keloid Fibroblasts is Mediated by Radical Oxygen Species In Vitro. / X. Wang, J. Li, L. Li, X. Li // Clin. Lab. – 2015. – Vol. 61 (9). – P. 1257-1266.
327. Wang, Z. MGMT promoter methylation in serum and cerebrospinal fluid as a tumor-specific biomarker of glioma / Z. Wang, W. Jiang, Y. Wang et al. // Biomed. Rep. – 2015. – Vol. 3 (4). – P. 543-548.
328. Wehbe, K. Differentiation between normal and tumor vasculature of animal and human glioma by FTIR imaging / K. Wehbe, R. Pineau, S. Eimer et al. // Analyst. – 2010. – Vol. 135 (12). – P. 3052-3059.
329. Wei, X. Serum MicroRNA-125b as a Potential Biomarker for Glioma Diagnosis / X. Wei, D. Chen, T. Lv et al. // Mol. Neurobiol. – 2016. – Vol. 53 (1). – P. 163-170.
330. Whelan, H.T. High-grade glioma/glioblastoma multiforme: is there a role for photodynamic therapy? / H.T. Whelan // J. Natl. Compr. Canc. Netw. – 2012. – Vol. 10. – P. 31-34
331. WHO Classification of Tumors, of the central nervous system. – Lion, 2007. – 309 p.
332. Wolbers, J.G. Novel strategies in glioblastoma surgery aim at safe, supra-maximum resection in conjunction with local therapies / J.G. Wolbers // Chin. J. Cancer. – 2014. – Vol. 33 (1). – P. 8-15.
333. Xie, Q. Role of Protease-Activated Receptor-1 in Glioma Growth / Q. Xie, X. Bao, Z.H. Chen et al. // Acta Neurochir. Suppl. – 2016. – Vol. 121. – P. 355-360.
334. Yan, Y. RACK1 affects glioma cell growth and differentiation through the CNTN2-mediated RTK/Ras/MAPK pathway / Y. Yan, Y. Jiang // Int. J. Mol. Med. – 2016. – Vol. 37 (1). – P. 251-257.

335. Yang, M.M. Possible differentiation of cerebral glioblastoma into pleomorphic xanthoastrocytoma: an unusual case in an infant / M.M. Yang, A. Singhal, S.R. Rassekh et al. // *J. Neurosurg. Pediatr.* – 2012. – Vol. 9 (5). – P. 517-523.
336. Yang, C. Identification of seven serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas / C. Yang, C. Wang, X. Chen et al. // *Int. J. Cancer.* – 2013. – Vol. 132 (1). – P. 116-127.
337. Yao, H. Enhanced blood-brain barrier penetration and glioma therapy mediated by a new peptide modified gene delivery system / H. Yao, K. Wang, Y. Wang et al. // *Biomaterials.* – 2015. – Vol. 37. – P. 345-352.
338. Yao, J. Magnetic Resonance Nano-Theranostics for Glioblastoma Multiforme / J. Yao, C.H. Hsu, Z. Li et al. // *Curr. Pharm.* – 2015. – Vol. 21 (36). – P. 5256-5266.
339. Yin, Y. Functional roles of enhancer of zeste homolog 2 in gliomas / Y. Yin, S. Qiu, Y. Peng // *Gene.* – 2016. – Vol. 576 (1 - 2). – P. 189-194.
340. Yongzhi, S. Role of IL-6 in the invasiveness and prognosis of glioma / S. Yongzhi, H. Xin, S. Wei et al. // *J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8 (6). – P. 9114–9120.
341. Yue, X. Downregulation of serum microRNA-205 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma / X. Yue, F. Lan, M. Hu et al. // *J. Neurosurg.* – 2015. – Vol. 31. – P. 1-7.
342. Yue, X. Downregulation of serum microRNA-205 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma / X. Yue, F. Lan, M. Hu et al. // *J. Neurosurg.* – 2016. – Vol. 124 (1). – P. 122-128.
343. Xu, Y.Y. Development of targeted therapies in treatment of glioblastoma / Y.Y. Xu, P. Gao, Y. Sun, Y.R. Duan // *Cancer Biol. Med.* – 2015. – Vol. 12 (3). – P. 223-237.

344. Zanker, K. The mystery of molecule-ozone: antiproliferative, immunomodulative, synergistic to chemotherapy and carcinogenetic / K. Zanker, R. KroczeK // IX Congress of Ozone, 1989. - P. 55—68.
345. Zhang, R. Plasma miR-221/222 Family as Novel Descriptive and Prognostic Biomarkers for Glioma / R. Zhang, B. Pang, T. Xin et al. // Mol. Neurobiol. – 2016. – Vol. 53 (3). – P. 1452-1460.
346. Zhang, X. The effect of bumetanide on photodynamic therapy-induced peri-tumor edema of C6 glioma xenografts /X., Zhang, D. Cong, X. Shen, et al. // Lasers Surg. Med. - 2014. – Vol. 46(5). - P. 422-430.
347. Zhao, Y.Z. Using FUS induced BBB/BTB-opening technique combined with Doxorubicin liposomes to improve glioma-targeted inhibition / Y.Z. Zhao, L.J. Chen, Q. Lin et al. // Oncotarget. – 2015. – Vol. 2. doi: 10.18632/oncotarget.5144.
348. Zhuang, W. Curcumin promotes differentiation of glioma-initiating cells by inducing autophagy / W. Zhuang, L. Long, B. Zheng et al. // Cancer Sci. - 2012. – Vol. 103 (4). – P. 684-690.
349. Ziu, M. The role of initial chemotherapy for the treatment of adults with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline / M. Ziu, S.N. Kalkanis, M. Gilbert et al. // J. Neurooncol. – 2015. – Vol. 125 (3). – P. 585-607.
350. Zheng, J. Role of Hydrogen Sulfide in Early Blood-Brain Barrier Disruption following Transient Focal Cerebral Ischemia / J. Zheng, L. Chun, L. Morganne et al. // PLoS One. – 2015. – Vol. 10 (2): e0117982. Published online 2015 Feb 19. doi: 10.1371.
351. Zhou, D. DNMT1 mediates chemosensitivity by reducing methylation of miRNA-20a promoter in glioma cells / D. Zhou, Y. Wan, D. Xie et al. // Exp. Mol. Med. – 2015. – Vol. 47. - e182. doi: 10.1038/emm.2015.57.

ПРИЛОЖЕНИЕ

СПИСОК БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ВКЛЮЧЕННЫХ В ДИССЕРТАЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ: «НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКЕ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА /клинико-экспериментальное исследование/»

№ п.п.	Фамилия	№ И.Б. пациента	Год	№ п.п.	Фамилия	№ И. Б пациента	Год
1	Б-ва	0029205	2000	15	Г-ов	0115201	2001
2	Б-ов	0002455	2000	16	Д-на	0112945	2001
3	И-ва	0030493	2000	17	Д-на	0102349	2001
4	К-ин	0030257	2000	18	Е-ва	0006743	2001
5	К-ов	0015411	2000	19	Е-ва	0228903	2001
6	К-ва	0030083	2000	20	Е-на	0104197	2001
7	М-ов	0029891	2000	21	К-ва	0112311	2001
8	А-на	0118697	2001	22	К-на	0116790	2001
9	А-ев	0013670	2001	23	Л-на	0235670	2001
10	Б-ва	0105043	2001	24	А-ва	0007854	2001
11	Б-ва	0056791	2001	25	М-ва	0107856	2001
12	Б-ев	0076098	2001	26	М-ов	0106215	2001
13	Б-ва	0103603	2001	27	П-на	0101209	2001
14	В-на	0106813	2001	28	П-ва	0102309	2001

29	С-ов	0103365	2001	54	П-ин	0229637	2002
30	С-ов	0031383	2001	55	С-ин	0215931	2002
31	Т-ев	0031099	2001	56	С-ва	0224283	2002
32	Ш-ва	0105065	2001	57	С-ин	0211081	2002
33	Я-ов	00367945	2001	58	С-ов	0214757	2002
34	Я-ая	010568	2001	59	С-ва	0228809	2002
35	А-на	0212420	2002	60	Т-ин	0130595	2002
36	А-ва	0224280	2002	61	Т-ва	0226213	2002
37	Б-ва	0222909	2002	62	Ф-ва	0210791	2002
38	Б-ин	0229343	2002	63	Х-ин	0201293	2002
39	Б-ов	0208463	2002	64	Ч-на	0223785	2002
40	В-на	0231307	2002	65	Ш-на	0129697	2002
41	В-ов	0053480	2002	66	Б-ая	0331347	2003
42	Г-ий	0216627	2002	67	В-ев	0306187	2003
43	Ж-ва	0231507	2002	68	В-ов	0221227	2003
44	К-ва	0203861	2002	69	В-на	0318685	2003
45	К-на	0216129	2002	70	В-ев	0305895	2003
46	К-ва	0219689	2002	71	Г-на	0310605	2003
47	К-ва	0213239	2002	72	Г-ва	0310967	2003
48	К-ин	0219627	2002	73	Г-ов	0317419	2003
49	К-ва	0210815	2002	74	И-ин	0328051	2003
50	М-ов	0215353	2002	75	К-ин	0321143	2003
51	М-ин	0219065	2002	76	К-ов	0319001	2003
52	П-ва	0212691	2002	77	К-на	0325414	2003

53	П-ва	0216890	2002	78	К-ов	0325790	2003
79	К-на	0302737	2003	104	Н-ва	0455348	2004
80	П-ин	0308678	2003	105	П-ев	0400581	2004
81	П-ва	0307575	2003	106	П-ов	0405509	2004
82	П-ов	0315195	2003	107	С-ов	0455266	2004
83	Р-ва	0314909	2003	108	С-ев	0405441	2004
84	С-ва	0224288	2003	109	С-ва	0407515	2004
85	С-ва	0328095	2003	110	С-ва	0403959	2004
86	С-ов	0303621	2003	111	С-ва	0455324	2004
87	С-на	0231093	2003	112	С-ов	0412136	2004
88	Ш-ов	0324963	2003	113	Т-ев	0457813	2004
89	Ш-ва	0337809	2003	114	Ф-ва	0331913	2004
90	А-ин	0404071	2004	115	Ф-ов	0456892	2004
91	Б-ов	0405608	2004	116	Х-ин	0456446	2004
92	В-ев	0451980	2004	117	Щ-ва	8178	2004
93	Г-ев	0403049	2004	118	Щ-на	8587	2004
94	Д-ва	0408304	2004	119	Б-ва	5987	2004
95	И-ев	0401587	2004	120	Б-на	5505	2004
96	К-ов	0402987	2004	121	В-ва	5548	2004
97	К-ов	0401611	2004	123	В-ва	7565	2004
98	К-ва	0406859	2004	124	Г-ко	7148	2004
99	К-ов	0406320	2004	125	Д-ва	7663	2004
100	К-ов	0405469	2004	126	Ж-ов	7890	2004
101	К-ва	0376510	2004	127	Ж-ва	286	2004

102	К-ин	0331561	2004	128	К-ин	2515	2004
103	М-ин	0336450	2004	129	К-ва	5550	2004
130	К-ва	2364	2004	155	С-ва	4166	2004
131	К-ва	3191	2004	156	С-ва	1343	2004
132	К-ов	5729	2004	157	С-ин	7658	2004
133	К-ва	7112	2004	158	С-ев	1531	2004
134	К-ва	4260	2004	159	Т-ин	566	2004
135	К-ов	1674	2004	160	Т-ов	4834	2004
136	Л-ва	2987	2004	161	У-ов	1222	2004
137	Л-ье	5691	2004	162	У-ов	1665	2004
138	М-ва	6852	2004	163	Х-ва	8065	2004
139	М-ва	7785	2004	164	Ц-ев	5684	2004
140	М-ин	7797	2004	166	Ч-ва	1236	2004
141	М-ов	3982	2004	167	Ш-ов	6986	2004
142	М-ва	3372	2004	168	Ш-ва	7779	2004
143	М-ов	8063	2004	169	Я-ов	6372	2004
144	М-ва	6729	2004	170	А-ов	4182	2005
145	Н-ва	7261	2004	171	А-ов	4590	2005
146	Н-на	7920	2004	172	А-ва	479	2005
147	О-ин	2576	2004	173	А-ва	6474	2005
148	О-ин	7535	2004	174	Б-ов	3902	2005
149	О-ин	3763	2004	175	Б-ва	3805	2005
150	П-ва	4168	2004	176	Б-ва	3707	2005
151	П-на	3395	2004	177	Б-ва	2668	2005

152	П-ко	3987	2004	178	Б-ва	8125	2005
153	С-ов	591	2004	179	В-ов	7257	2005
154	С-ов	8335	2004	180	В-ва	7009	2005
181	Г-юк	3804	2005	207	П-ин	35	2005
182	Г-ов	8048	2005	207	С-ов	1438	2005
183	Г-ев	7307	2005	209	С-ов	131	2005
184	Е-ев	5382	2005	210	С-ов	5809	2005
185	Е-ко	5633	2005	211	С-на	7067	2005
186	Е-ин	5778	2005	212	С-ов	6232	2005
187	Р-ко	3388	2005	213	С-ов	0502876	2005
188	Ж-ва	7608	2005	214	С-ва	8909	2005
190	И-ва	2380	2005	215	Т-ва	8285	2005
191	К-ва	1494	2005	216	Х-ин	4723	2005
192	К-ев	8214	2005	217	Ч-ва	690	2005
193	К-ва	6078	2005	218	Р-ов	5126	2005
194	К-ва	4019	2006	219	Т-ва	5809	2005
195	К-ва	2926	2005	220	В-на	1289	2005
196	Л-на	3958	2005	221	С-ов	4578	2005
197	М-на	3780	2005	222	Ч-ва	5698	2005
198	М-ов	3311	2005	223	Ш-ва	7534	2005
199	Н-ая	4323	2005	224	Ш-на	1355	2005
200	Н-ит	506	2005	225	Я-ва	321	2005
201	Н-на	5500	2005	226	А-на	0621931	2006
202	Н-ва	5689	2005	227	К-ва	3490	2006

203	Н-ов	5097	2005	228	К-ик	575	2006
204	Н-ов	8431	2005	229	Л-на	317	2006
205	П-ва	6709	2005	230	К-ва	1834	2006
206	П-ва	2378	2005	231	М-ин	1781	2006
232	Н-на	901	2006	257	М-ов	2088	2006
233	Н-ко	2610	2006	258	А-ен	2809	2007
234	Н-на	9071	2006	259	А-ин	3150	2007
235	П-на	1937	2006	260	Б-ко	4927	2007
236	П-ин	2857	2006	261	Ж-ов	7070	2007
237	С-ва	434	2006	262	И-ов	6890	2007
238	С-ов	318	2006	263	К-ва	4809	2007
239	С-ва	2856	2006	264	К-ва	2574	2007
240	Д-на	3232	2006	265	М-ин	136	2007
241	С-на	893	2006	266	М-ва	457	2007
242	П-ва	6901	2006	267	Н-ва	689	2007
243	Х-ев	6353	2006	268	П-ий	6254	2007
244	Ш-ва	5412	2006	269	С-ва	5889	2007
245	Ю-ва	1058	2006	270	С-ва	2797	2007
246	А-ва	7540	2006	271	С-ов	312	2007
247	Б-ва	8927	2006	272	Т-ва	159	2007
248	Б-ва	7189	2006	273	И-ов	1987	2007
249	Б-ов	839	2006	274	Е-ов	2890	2007
250	Д-ев	572	2006	275	Г-на	1097	2007
251	Д-ин	391	2006	276	Ш-ин	551	2007

252	Е-ев	459	2006	277	Щ-ов	4473	2007
253	Ж-ва	768	2006	278	А-ва	1077	2007
254	К-ко	897	2006	279	Б-ва	1856	2008
255	К-ин	967	2006	280	Б-ва	1941	2008
256	К-ин	967	2006	281	Б-ов	521	2008
282	К-ва	993	2008	307	В-ев	0565771	2005
283	К-ов	424	2008	308	Г-на	0559751	2005
284	Н-ов	3701	2008	309	Д-ва	0558499	2005
285	П-ко	1711	2008	310	Д-ва	0563815	2005
286	С-ов	5818	2008	311	Е-ев	0543870	2005
287	Т-ов	2229	2008	312	Е-ва	0501955	2005
288	Я-ко	2068	2008	313	З-ко	0563695	2005
289	К-на	1569	2008	314	К-ва	0552921	2005
290	В-ов	0630103	2006	315	К-ев	0564930	2005
291	Г-ев	0636754	2006	316	К-ва	5990	2005
292	Г-ва	0623201	2006	317	К-ва	0556101	2005
293	Д-ий	0621321	2006	318	М-ва	0550215	2005
294	Е-ов	0626097	2006	320	М-ин	0553377	2005
295	К-ва	0626549	2006	321	М-ов	0566128	2005
296	Л-ин	0626271	2006	322	П-ов	0559853	2005
297	С-ва	0627063	2006	333	П-ва	0567253	2009
298	С-ов	0624439	2006	334	Р-ов	0552221	2009
299	Т-ов	0628319	2006	335	Е-ов	0552309	2009
300	Ц-ов	0629111	2006	336	С-ва	8912	2009

301	Ц-ов	0626015	2005	337	Е-ов	8876	2010
302	А-ва	0451617	2005	338	И-ов	7890	2010
303	Б-ев	0422727	2005	339	Н-ов	9109	2010
304	Б-ва	0502631	2005	340	Л-ва	8965	2010
305	Б-ов	0422541	2005	341	В-ва	9283	2011
306	В-ва	0551181	2005	342	М-ов	758	2012
343	Л-ов	954	2012	368	М-ва	301310	2012
344	А-ва	257434	2012	369	К-ов	272545	2012
345	А-ва	261553	2012	370	Л-ев	26900	2012
346	А-на	258485	2011	371	П-ов	25978	2012
347	Б-ян	258395	2011	372	К-ов	26187	2012
348	Б-на	259362	2011	373	К-ин	26801	2012
349	Б-ва	256749	2011	374	У-ва	259120	2012
350	К-ев	7689	2011	375	Р-ов	240756	2012
351	Б-ва	258519	2011	376	Р-ва	258965	2012
352	В-ий	256256	2011	377	Щ-ва	265003	2012
353	В-ва	260576	2012	378	Ф-ин	24709	2012
354	В-ая	257639	2011	379	Т-ко	25070	2012
355	Г-ев	257434	2011	380	К-ва	23409	2012
356	Д-ва	261617	2011	381	Г-ев	266902	2013
357	К-ов	259132	2011	382	Л-ва	269943	2013
358	Л-ва	256392	2011	383	А-ев	36890	2013
359	К-ов	261677	2012	384	П-ва	269753	2013
360	М-ва	260083	2012	385	Р-ко	267859	2013

361	П-ва	258810	2012	386	Б-ов	266343	2013
362	П-ра	3697	2011	387	С-ов	278172	2013
363	С-на	257333	2011	388	Я-ев	269858	2013
364	Т-ов	257141	2011	389	С-ев	279397	2013
365	С-ва	287259	2011	390	С-ин	276240	2013
366	Ю-ов	258230	2011	391	Т-на	257772	2014
367	Ш-зе	261757	2012	392	Ч-ва	272096	2014
393	Ш-на	256908	2012	413	Я-ин	1790	2005
394	М-ин	276649	2012	414	С-ов	1902	2005
395	Г-ов	274951	2012	415	В-ва	2458	2008
396	К-ев	274722	2012	416	К-ов	670	2009
397	К-ов	276235	2012	417	К-ва	6091	2009
398	Ф-ва	274606	2012	418	Х-ов	7135	2008
399	Ш-ев	274623	2012	419	М-ов	4509	2009
400	П-ин	286115	2012	420	М-на	1987	2008
401	Т-ва	274867	2012	421	З-ов	4219	2008
402	С-ин	275220	2012	422	Г-ва	6790	2007
403	К-ко	285213	2012	423	К-ов	8711	2010
404	М-ва	286918	2012	424	Г-ва	789	2010
405	К-ин	4987	2005	425	А-ва	521	2010
406	К-на	4545	2005	426	С-ва	7890	2010
407	Д-на	4501	2007	427	В-ва	4478	2009
408	Н-на	1789	2006	428	З-ва	3689	2009
409	Л-ев	3012	2007	429	А-ов	3001	2008

410	С-ая	478	2007	430	Б-на	3217	2007
411	Ю-ая	3298	2005	431	В-ов	870	2007
412	К-ов	3478	2008	432	М-ва	521	2006