

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
НЕЙРОХИРУРГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Н.Н. БУРДЕНКО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ГОРЯЙНОВ СЕРГЕЙ АЛЕКСЕЕВИЧ

Метаболическая навигация в хирургии первичных и вторичных
опухолевых поражений головного мозга

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

3.1.10. – нейрохирургия

Научные консультанты: академик РАН, д.м.н., профессор Потапов А.А.
д.м.н., профессор РАН Захарова Н.Е.

Москва 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	4
Введение	5
Глава 1 Обзор литературы.....	18
Глава 2 Материал и методы исследования.....	55
Глава 3 Сравнительный анализ чувствительности метаболической навигации в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности, интракраниальных менингиом и метастазов.....	77
Глава 4 Клинические, нейровизуализационные и патоморфологические предикторы эффективности флуоресценции в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности.	93
Глава 5 Использование флуоресценции для прицельной биопсии глиом головного мозга при микрохирургических и стереотаксических операциях.....	108
Глава 6 Флуоресценция в хирургии глиом головного мозга, локализованных в функционально значимых зонах коры и вблизи проводящих путей.....	131
Глава 7 Исходы хирургического лечения злокачественных глиом с использованием метода флуоресцентной диагностики у пациентов с глиомами головного мозга.....	153
Глава 8 Результаты применения флуоресцентной диагностики с 5-АЛК в хирургии интракраниальных менингиом.	175
Глава 9 Результаты применения флуоресцентной диагностики с 5-АЛК в хирургии интракраниальных метастазов.	194
Глава 10 Сравнительный анализ применения метаболической навигации для выявления опухолевых клеток в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности и интракраниальных метастазов.....	211
Глава 11 Применение спектроскопических технологий в оперативной нейроонкологии.....	231
Глава 12 Фундаментальные исследования флуоресцентного эффекта в нейроонкологии и перспективы развития метода.	250

Заключение	263
ВЫВОДЫ	313
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	316
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	320
Приложение А. (Алгоритмы ФД с 5-АЛК)	357
Приложение Б.	363
Приложение В.....	364
Приложение Г.....	365
Приложение Д.....	367
Приложение Е.....	369
Приложение Ж.....	371
Приложение З.....	372
Приложение И.....	373

Список сокращений

МН – метаболическая навигация

ФЗЗ - функционально значимые зоны

МРТ - магнитно-резонсная томография

иМРТ /iMRI/ – интраоперационная магнитно-резонсная томография

иКТ – интраоперационная компьютерная томография

иУЗИ – интраоперационная ультразвуковая диагностика

фМРТ – функциональная магнитно-резонсная томография

ПТ – пирамидный тракт

5-АЛК – 5-аминолевуленовая кислота

ЭС - электростимуляция

ПП IX – протопорфирин IX

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

СТБ – стереотаксическая биопсия

ФД – флуоресцентная диагностика

LGG – low-grade glioma (WHO Grades I-II)

HGG – high-grade glioma (WHO Grades III-IV)

УЗ – ультразвук

ТМО – твердая мозговая оболочка

EOR - extent of resection – степень резекции опухоли

GTR – gross total resection - тотальное удаление опухоли

PFS – progression free survival - безрецидивная выживаемость

OS – overall survival - общая выживаемость

WL – белый свет

ДТ трактография – диффузионно-тензорная трактография

АЭП – антиэпилептические (противосудорожные) препараты

ТК МВП – транскраниальные моторные вызванные потенциалы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Рекомендации по проведению нейроонкологических операций включают максимальную резекцию опухоли с минимальным риском функциональных осложнений с обязательным использованием: предоперационного планирования, включающего функциональную магнитно-резонансную томографию (фМРТ) и трактографию; микрохирургической техники и интраоперационной оптики [1; 94; 254].

Надежная информация относительно объема резецированной опухоли может быть получена путем интраоперационной визуализации. Решение этой проблемы реализуется, в основном, с помощью применения оптических систем (операционные микроскопы и эндоскопы), интраоперационной компьютерной томографии (иКТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), интраоперационной ультразвуковой диагностики (иУЗИ), а и трехмерной безрамной ультразвуковой нейронавигации, нейронавигационных систем, метаболической навигации и различных комбинаций этих методов [22; 53; 126; 249].

С учетом того, что возможности использования интраоперационной МРТ (иМРТ) ограничены, а иУЗИ не позволяет получить информацию о метаболических параметрах опухоли, актуальными представляются разработка и совершенствование интраоперационной оптической нейровизуализации и методов оптической спектроскопии в нейроонкологии [282-285].

В настоящее время общепринятой является мультимодальная стратегия в хирургии злокачественных опухолей головного мозга с использованием электрической стимуляции коры, нейронавигации и метаболической навигации [125; 282; 283; 111-115]. Мультимодальный подход в интраоперационной нейронавигации подразумевает сочетанное применение современных возможностей анатомической, физиологической и метаболической навигации с учетом индивидуальных особенностей пациента в каждом конкретном случае и

оснащенности клиники для уменьшения травматичности оперативного вмешательства на головном мозге.

Метаболическая навигация является одним из основных методов интраоперационной визуализации в хирургии опухолей головного мозга различной гистологической природы [282-285; 296]. В 1947 году опубликовано первое клиническое сообщение о применении флуоресцеина во время нейрохирургических операциях при удалении опухолей головного мозга у 46 пациентов, что до появления методов нейровизуализации способствовало более точному определению локализации опухоли во время оперативного вмешательства [218].

В конце 90-ых годов появились первые данные о возможности применения 5-аминолевуленовой кислоты (5-АЛК) в нейрохирургии, которые были посвящены, в основном, злокачественным глиомам [282-285].

В настоящее время 5-АЛК применяется в хирургии других опухолей головного и спинного мозга как у детей, так и у взрослых, в частности, при менингиомах [91; 93; 130; 145; 214], метастазах [61; 164-166; 203; 294], нейроцитомах [279], эпендимомах [118; 151].

Степень разработанности темы

До настоящего времени остаются немногочисленными публикации об использовании флуоресценции при интракраниальных менингиомах. В связи с этим, требуется уточнение необходимости использования метода при удалении данных опухолей, особенно для выявления гиперостозов [214].

По данным литературы остается до конца неясным вопрос о необходимости применения 5-АЛК в хирургии интракраниальных менингиом, которые являются хорошо отграниченными от мозга опухолями. В тоже время применение 5-АЛК помогает хирургу выявить дополнительные зоны свечения пораженной ТМО, костных структур и арахноидальных оболочек [214].

В хирургии интракраниальных метастазов с использованием 5-АЛК отмечается выраженный разброс чувствительности метода [21; 164-166]. Остается

неясным связь флуоресцентного эффекта и органоспецифических свойств метастазов, влияние предоперационного лучевого лечения, приема противосудорожных и противоотечных препаратов. Важным и неясным вопросом остается феномен свечения ложа метастатических узлов в головном мозге - по одним данным данное окрашивание не является специфичным, по другим – указывает на наличие опухолевые клеток в зоне инвазии метастатической опухоли в мозг [164-166].

Дискутабельным является вопрос о флуоресценции глиом низкой степени злокачественности. В частности, в ряде работ показан высокий разброс чувствительности ФД у данной категории пациентов от 0 до 40% [202]. По данным G. Widhalm (2013) в неконтрастирующихся глиомах по данным МРТ во время флуоресценции отмечается феномен свечения фокусов, которые являются зонами анаплазии. При этом в «чистых» Grade II опухолях свечение по данным ряда авторов, отсутствует [307].

Помимо широкого применения 5-АЛК при микрохирургических операциях в литературе не решен вопрос об использовании метода при стереотаксических биопсиях глубинно расположенных опухолей [423]. Имеются единичные работы о применении флуоресценции в ходе СТБ [78; 306].

Важным вопросом является поиск различных предикторов эффективности применения флуоресценции у пациентов с глиомами головного мозга, в частности, показателей кровотока, по данным бесконтрастной ASL перфузии, индекса накопления метионина, по данным ПЭТ, объема контрастирующейся части опухоли, влиянии гистологических особенностей опухоли (наличие олигокомпонента, кист, пролиферативного индекса) и других факторов, включая лечение противосудорожными препаратами [284; 285; 306; 307]. Это особенно актуально вследствие высокой стоимости препарата 5-АЛК.

Особенно сложен вопрос о применении 5-АЛК в хирургии глиом функционально значимых зон мозга. С одной стороны, это противоречит концепции расширения объема резекции, с другой стороны – данные методы дополняют друг друга [240]. Пока недостаточно разработан метод сочетанного

применения 5-АЛК навигации и хирургии с интраоперационным «пробуждением» [94]. При этом требует совершенствования техника интраоперационного картирования коры и, особенно, длинных ассоциативных трактов мозга.

При локализации опухоли вблизи корковых речевых зон и длинных ассоциативных трактов с целью оптимального предоперационного планирования используется функциональной МРТ и различные методы МР-трактографии. Для визуализации данных зон во время операции применяются картирование коры мозга и длинных ассоциативных трактов в «сознании» [59; 110-117]. Однако не разработан алгоритм сочетанного применения этих методов при операциях с использованием метаболической навигации.

Хирургическое лечение опухолей головного мозга и, прежде всего, глиом является сложной задачей для хирурга, своеобразным «вызовом» и требует высокого хирургического мастерства, совершенствования хирургических навыков, в том числе, в анатомической лаборатории. Как говорил профессор Yasargil: «Я могу клипировать аневризму, но удалить глиому намного сложнее».

Вместе с тем для практикующих нейрохирургов необходимо понимание границ возможностей хирургического лечения при злокачественных глиомах, обусловленных биологическими особенностями самих опухолей, что пока находится за пределами возможностей лечебных воздействий как со стороны нейрохирургов, так и со стороны врачей смежных специальностей (прежде всего, радиологов и химиотерапевтов). С этой целью важным является изучение исходов хирургического лечения пациентов (прежде всего с глиобластомами головного мозга) с использованием 5-АЛК. Это обусловлено тем, что, по данным некоторых авторов, отсутствуют четкие доказательства улучшения общей выживаемости в хирургии злокачественных глиом при использовании различных хирургических техник, в том числе 5-АЛК [153].

Влияние хирургии на общую выживаемость в целом, выживаемость без прогрессирования заболевания при глиобластомах и качество жизни неясны [153]. В тоже время в более ранних работах Stummer (2006) показано достоверное увеличение 6-месячной безрецидивной выживаемости и повышение радикальности

операций у пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с 5-АЛК по сравнению с классической резекцией опухоли в белом свете [282]. Эти противоречия заставляют нас вырабатывать собственные представления о пользе метода метаболической навигации в нейроонкологии, прежде всего у пациентов с глиобластомами, которые могут быть обоснованы только тщательным анализом данных послеоперационной МРТ и выживаемости пациентов.

Остается неясной причина значительных различий в объемах резекции злокачественных глиом при резекциях в белом свете и с использованием флуоресценции, что может быть связано с плохим отличием инфильтративной части опухоли от интактного мозга [283].

Будущие исследования в нейроонкологии потребуют создания адекватных моделей, одной из которых является культуры тканей глиомы мозга человека. Создание биобанков с такими культурами позволяет тестировать новые лекарственные препараты и более детально изучать клетки опухоли, в том числе особенности флуоресцирующих свойств опухолей *in vitro*. Это является актуальным для более точного понимания молекулярных механизмов отсутствия свечения у некоторых пациентов с глиомами головного мозга и поиска механизмов дальнейшего повышения чувствительности метода.

Цель исследования

Разработать алгоритмы применения метаболической навигации в хирургии первичных и вторичных опухолей головного мозга различной гистологической природы и степени злокачественности с учетом функциональной значимости прилежащих структур мозга.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ чувствительности метаболической навигации с 5-АЛК в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности, интракраниальных менингиом и метастазов различной гистологической и органоспецифической природы.

2. Исследовать клинические, нейровизуализационные (включая параметры

кровотока по данным ASL перфузии и индекс накопления метионина по данным предоперационной ПЭТ) и патоморфологические (включая IDH 1 мутацию) предикторы эффективности использования 5-АЛК при глиомах различной степени злокачественности.

3. Обосновать необходимость использования метаболической навигации для прицельной биопсии анапластических зон диффузных глиом при микрохирургических операциях и для отбора биоптатов при стереотаксических операциях.

4. Изучить преимущества и недостатки сочетанного применения флуоресцентной диагностики, нейрофизиологического картирования корковых структур и проводящих путей в хирургии глиом, локализованных вблизи функционально значимых зон мозга.

5. Изучить исходы хирургического лечения злокачественных глиом с использованием 5-АЛК (объем резекции; выживаемость; неврологический статус);

6. Изучить флуоресцентные эффекты 5-АЛК и обосновать целесообразность ее применения в хирургии интракраниальных менингиом разной степени злокачественности, гистологической структуры и локализации.

7. Уточнить чувствительность и ограничения метода метаболической навигации в хирургии интракраниальных метастазов различных раков в головной мозг.

8. Сравнить чувствительность метаболической навигации в выявлении опухолевых клеток в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности и интракраниальных метастазов.

9. Изучить особенности применения лазерной спектроскопии и модифицировать технику ее применения в хирургии интракраниальных менингиом и метастазов в дополнение к оценке свечения опухоли через окуляры микроскопа.

10. Выявить особенности и отличия в синтезе протопорфирина IX в культурах тканей, полученных от флуоропозитивной и флуоронегативной глиобластом головного мозга.

Научная новизна исследования

Впервые сравнительный анализ чувствительности флуоресцентной диагностики основных интракраниальных опухолей (доброкачественных и злокачественных глиом головного мозга, менингиом и метастазов) выполнен на большой серии пациентов (403 пациента), оперированных в одном учреждении по единому протоколу.

Впервые показан прогностический эффект пороговых значений кровотока в глиальных опухолях головного мозга, измеренного с помощью предоперационной ASL перфузии и ПЭТ головного мозга с метионином, для прогнозирования свечения опухоли во время оперативного вмешательства.

Показана эффективность и безопасность метода флуоресцентной диагностики при стереотаксической биопсии опухолей головного мозга при высокой чувствительности определения опухолевых клеток в светящихся биоптатах с помощью спектрального зонда, интегрированного с биопсийной канюлей (Патент на изобретение РФ № 2529629 «Устройство для биопсии паренхиматозных органов с одновременным спектроскопическим контролем»).

Впервые проведен анализ влияния противосудорожных препаратов на эффект свечения у пациентов с глиомами низкой степени злокачественности. При этом выделено 2 типа свечения: фокусное и диффузное.

Впервые выявлена клеточная гетерогенность (плотность клеток и пролиферативный индекс) строения флуоропозитивных и флуоронегативных участков глиом Grade II-III.

Разработана методика сочетанного применения ФД с 5-АЛК и интраоперационного картирования функциональных зон коры мозга, включая двигательные и речевые, а также длинных ассоциативных трактов мозга (аркуатного и лобного косоного пучков) с использованием краниотомии в сознании с параллельным применением метаболической навигации.

Показана низкая специфичность обнаружения опухолевых клеток в ложе удаленных метастатических опухолей при использовании метаболической навигации по сравнению с глиомами высокой степени злокачественности.

Усовершенствованы способы спектроскопических измерений в нейрохирургии опухолей головного мозга, показаны их преимущества в сравнении с оценкой флуоресценции в микроскопе. Получены патенты РФ: № 2497558 «Способ проведения интраоперационной комбинированной спектроскопической диагностики опухолей головного и спинного мозга»; № 115776 «Наконечник нейрохирургического аспиратора с встроенными каналами для спектрального, видео и электрофизиологического контроля с функцией шпателя»; № 183278 «Устройства для нейрохирургической аспирации со спектроскопическим и электрофизиологическим контролем».

Практическая значимость

На основании выполненного исследования разработаны практические рекомендации по использованию метаболической навигации при опухолях головного мозга различной гистологической природы (глиомах, менингиомах и метастазах).

На основании работы показания и противопоказания к применению метаболической навигации: сформулированы преимущества, недостатки и ограничения метода в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности, интракраниальных менингиом и метастазов; определены категории пациентов в градациях по степени эффективности применения флуоресценции во время операций.

Разработаны алгоритмы применения метаболической навигации у пациентов с глиомами, менингиомами и интракраниальными метастазами, в том числе в функционально значимых зонах, при микрохирургических и стереотаксических операциях.

Создано, апробировано и запатентовано дополнительное оборудование и хирургический инструментарий для метаболической навигации (аспиратор с встроенным каналом для спектроскопии, модифицированная канюля Нашольда, оптическая видеосистема для анализа флуоресценции).

Методология и методы исследования

Ретроспективное и проспективное когортное исследование проведено в соответствии с современными требованиями к научно-исследовательской работе. Методология исследования соответствует современным нейрохирургическим и нейроонкологическим принципам и подходам к лечению опухолей головного мозга. Всем пациентам проводился подробный сбор анамнеза (клинические проявления, данные пройденного нейрохирургического и онкологического лечения), оценивались радикальность операции, послеоперационные осложнения. Нейроморфологическое исследование проводилось во всех случаях.

Объект исследования – пациенты не моложе 18 лет с первичными (глиальными опухолями различной гистологической природы, менингиомами) и вторичными (метастатическими) опухолями в головном мозге, подвергшиеся повторному хирургическому лечению в НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко в период с 2014 по 2020 годы с применением методики интраоперационной флуоресцентной диагностики с 5-АЛК.

Все пациенты оперированы нейрохирургами 9 нейрохирургического отделения (черепно-мозговая травма), при этом 70% операций выполнено непосредственно автором (как самостоятельно, так и в качестве ассистента). В основную группу вошли всего 403 пациента.

Предмет исследования – особенности применения метаболической навигации с 5-АЛК у пациентов с опухолями головного мозга различной гистологической природы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. 5-АЛК с применением микроскопа имеет высокую чувствительность при глиобластомах, анапластических глиомах и менингиомах головного мозга. Метод менее эффективен при глиомах низкой степени злокачественности и интракраниальных метастазах.

2. Локализация опухоли вблизи функционально значимых зон мозга не

является ограничением к применению метода при условии использования нейрофизиологического картирования.

3. К факторам, влияющим на флуоресцентный эффект при резекции глиом головного мозга, относятся: 1) объем контрастирующейся части опухоли, 2) уровень кровотока по данным бесконтрастной ASL перфузии, 3) метаболическая активность опухоли по данным ПЭТ с метионином до операции, 4) прием противосудорожных препаратов (только для глиом низкой степени злокачественности), 5) наличие мутации IDH 1, 6) гистологический подтип глиомы (олигодендроглиома, анапластическая олигодендроглиома).

4. При микрохирургических резекциях глиом Grade II-III применение метаболической навигации позволяет выявить фокусы анаплазии в виде участков с повышенным индексом пролиферативной активности, плотности ядер клеток по сравнению с нефлуоресцирующими участками опухоли, занимающими ее основной объем. Применение метаболической навигации при стереотаксических биопсиях у пациентов со злокачественными глиомами и лимфомами головного мозга является дополнительным инструментом контроля наличия опухолевых клеток в биоптатах при наличии яркого свечения.

5. При использовании 5-АЛК в хирургии интракраниальных менингиом метаболическая навигация позволяет выявить мелкие остаточные фрагменты опухоли, зоны поражения кости, твердой мозговой оболочки, арахноидальной оболочки.

6. В отличие от интракраниальных метастазов яркая флуоресценция в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности является надежным методом выявления опухолевых клеток в зоне опухолевой инфильтрации при отсутствии изменений в белом свете микроскопа.

7. При оценке результатов лечения установлено, что метаболическая навигация при резекции глиом высокой степени злокачественности в первую очередь эффективна для удаления контрастируемой части опухоли.

8. При хирургическом лечении интракраниальных менингиом и метастазов лазерная спектроскопия выявляет количественное накопление протопорфиринов в

опухоли и окружающих тканях, при этом ее показатели значимо выше в менингиомах относительно метастазов. При отсутствии видимой флуоресценции спектроскопия позволяет выявить накопление протопорфиринов в опухоли и перифокальной зоне.

9. Максимальное накопление протопорфиринов в культурах нефлуоресцирующих глиом отмечалось в диапазоне 8-16 часов с момента инкубации клеток с 5-АЛК.

Степень достоверности результатов работы

Наличие репрезентативной выборки пациентов, выбранной в соответствии с целью и задачами исследования, а также использование статистических методов обработки данных делают результаты диссертации и основанные на них выводы достоверными и обоснованными в соответствии с принципами доказательной медицины. В проведенном исследовании использованы современные методы сбора, систематизации и обработки информации, проведено сопоставление полученных результатов с данными опубликованных исследований по тематике работы, получено соответствие ряда сформулированных положений сведениям, содержащимся в независимых современных источниках по теме выполненного исследования.

Апробация работы

Основные положения и результаты диссертационной работы представлены на: Европейском съезде нейрохирургов EANS (Прага, 12-17 октября 2014, Top 100 poster, № 025); Международном обществе по нейровизуализации в нейрохирургии IONM (Дели, 3-8 февраля 2015); Международном обществе по нейровизуализации в нейрохирургии IONM Ганновер, 12-15 февраля 2017); съезде Европейской ассоциации нейрохирургов EANS (Венеция, 1-5 октября 2017); конференции Австрийского общества нейроонкологии (Вена, 15-18 мая 2018); съезде Европейского общества нейроонкологов EANO (Стокгольм, 10-14 октября 2018); Всероссийском съезде нейрохирургов (Казань, 2-6 июня 2015);

нейрохирургической конференции «Поленовские чтения» (Санкт Петербург, 19-21 апреля 2017); Конгрессе по фотодинамической диагностике и терапии (Ростов-на-Дону, 14-16 сентября 2017), Конгрессе по фотодинамической диагностике и терапии (Москва, 23-27 сентября 2019); Всероссийском съезде онкологов (Москва, 11-14 ноября 2020); расширенном заседании проблемной комиссии «Биология и комплексное лечение глиальных опухолей» ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России 17.09.2020 г. (протокол № 5/20).

Внедрение в практику

Результаты работы внедрены в практику 9 нейрохирургического отделения (черепно-мозговая травма), 4 нейрохирургического отделения (сосудистая нейрохирургия), 5 нейрохирургического отделения (околостволовые опухоли), 7 нейрохирургического отделения (глиальные опухоли), 10 нейрохирургического отделения (спинальная патология) ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России.

Основные положения и результаты внеднены в учебный процесс кафедры нейрохирургии с курсами нейронаук НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко.

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в сборе материала, анализе, обобщении и научном обосновании полученных результатов, в непосредственном участии во всех этапах исследования: определении цели и задач исследования, участии в лечении пациентов, в том числе в нейрохирургических операциях. Из них в 70% - в качестве оперирующего хирурга или ассистента, в формулировке выводов, практических рекомендаицй, подготовке публикации результатов исследования, написании текста диссертации и автореферата.

Публикации

По теме диссертации опубликованы 39 научных работ, которые полностью отражают основные положения, результаты и выводы диссертационного исследования. Из них 16 статей опубликованы в научных рецензируемых

журналах, входящих в Перечень ВАК Минобрнауки РФ, 6 статей – в иностранных журналах (4 из них – входят в базу Scopus), 4 – в виде патента РФ, 1 монография, 1 глава в иностранной монографии, 11 – в виде тезисов в материалах конференций, съездов и конгрессов (6 из них – на международных и 5 – на отечественных). Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2020-809 (13.1902.21.0030).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы "материалы и методы исследования", 10 глав собственного исследовательского материала, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Текст изложен на 375 страницах, иллюстрирован 119 рисунками и содержит 58 таблиц. Список литературы содержит 318 источников (из них 38 отечественных и 280 зарубежных).

Глава 1 Обзор литературы

1.1 Принципы современной нейроонкологии

Основой современного лечения опухолевых заболеваний ЦНС является микрохирургический метод удаления опухоли. Хирургическое удаление производится для максимально возможного уменьшения объема опухоли с целью разрешения внутричерепной гипертензии и уменьшения неврологического дефицита, а также получения достаточного количества морфологического материала. Улучшение визуализации опухоли в современной нейрохирургии решается с помощью ряда интраоперационных методов, таких как УЗИ, МРТ, КТ, 5-АЛК [84-86]. В совокупности это приводит к повышению радикальности и безопасности хирургических вмешательств на головном мозге.

Связь радикальности хирургических вмешательств у пациентов с глиомами головного мозга и ее влияние на прогноз доказаны во многих работах [257; 258; 280]. В исследовании Nader Sanai et al. (2011) была продемонстрирована связь между радикальностью операции удаления глиобластом, по данным T₁ МРТ с контрастным усилением, и временем общей выживаемости (Таблица 1).

Таблица 1 - Связь между объемом резекции опухоли и медианой общей выживаемости у пациентов с глиобластомами (по Sanai et al., 2011)

Объем резекции	Медиана общей выживаемости, дней	p<0,05
78%	375	
80%	384	
90%	414	
100%	480	

В хирургии злокачественных глиом с продолженным ростом также показана взаимосвязь между объемом резекции (EOR) и общей выживаемостью. При этом

повторная краниотомия обеспечивала лучшие исходы при достижении GTR [65]. Аналогичные данные были получены при глиобластомах у пожилых пациентов [51].

Ряд авторов сообщает о необходимости супратотальных резекций глиобластом, включая не только контрастирующуюся по МРТ часть опухоли, но и резекцию зоны измененного сигнала во FLAIR режиме, что увеличивает общую выживаемость пациентов [242]. Важность максимально возможной резекции глиобластом важна не только для первичных, но и для вторичных опухолей, что доказано влияет на выживаемость [141]. В серии, включающей 101 пациента с глиобластомами, у 12 человек отмечался феномен длительной выживаемости, что составило около 11%, при этом одним из важнейших факторов в данной подгруппе отмечена степень резекции опухоли: GTR или субтотальное удаление [121].

Ряд авторов сообщают о необходимости «супратотальных» резекций в хирургии глиом низкой степени злокачественности [316], что предупреждает развитие анапластической трансформации (медиана наблюдения составила около 70.3 (32-105) месяцев. Подобные сообщения имеются в литературе для глиобластом, локализованных вне пределов функционально значимых зон мозга [110-117]. Выделяют следующие типы удаления внутримозговых опухолей по данным послеоперационной МРТ волюметрии (в скобках указан объем оставшейся после удаления части опухоли): тотальное удаление (GTR >90%/95%/98%); субтотальное удаление (NTR 75-95%); парциальное удаление (debulking) 50-75%; открытая биопсия – менее 50% [257].

1.2 Способы повышения радикальности оперативных вмешательств в нейроонкологии

Интраоперационная ультразвуковая диагностика

В настоящее время при помощи трехмерного интраоперационного ультразвука могут быть лоцированы различные патологические образования, например такие как астроцитомы различной степени злокачественности, аденомы, олигодендроглиомы, эпендимомы, менингиомы, лимфомы, метастазы, каверномы,

артерио-венозные мальформации, паразитарные кисты и абсцессы, гематомы [293].

Применение трехмерного интраоперационного ультразвука в сочетании с системой безрамной навигации (как в виде отдельных устройств, так и объединенных в едином блоке), на сегодняшний момент является не только полноценным дополнением к данным КТ и МРТ, но и позволяет обойтись без применения интраоперационной МРТ.

На сегодняшний момент интраоперационное УЗИ остается одним из наиболее доступных, безопасных и диагностически ценных методов нейровизуализации. Получаемая информация не только органично встраивается в предоперационные данные (КТ и МРТ), но и существенно дополняет их с учетом интраоперационных изменений [293].

Крупнейшими современными исследователями интраоперационных возможностей УЗИ в нейрохирургии являются профессора G. Unsgaard (Норвегия) и F. Prada (Италия). Последний автор активно развивает УЗИ с внутривенным контрастированием. Результаты операций у серии пациентов с LGG, оперированных с использованием 3Д УЗИ, опубликована в 2019 году [66]. Некоторые исследователи назвали интраоперационное УЗИ «новой надеждой» в хирургии глиом [244].

Совмещение предоперационных МРТ изображений и данных интраоперационного УЗИ сканирования с контрастированием является полезной опцией [312]. УЗИ с контрастированием позволяет идентифицировать остаточную глиобластому после основного этапа удаления опухоли [249].

Более 90% злокачественных и до 50% доброкачественных глиом имеют хорошую контрастность по сравнению с интактным мозгом по данным интраоперационного УЗИ с контрастированием, что позволяет идентифицировать края и границы опухоли. Особенно полезно интраоперационное УЗИ для контроля степени резекции глиобластомы и выявления остаточной опухоли [48].

Интраоперационная магнитно-резонансная томография

Интраоперационный МР томограф позволяет увеличить радикальность

хирургии при глиомах головного мозга [252]. В 2017 году опубликованы результаты немецкого многоцентрового исследования по применению иМРТ в хирургии доброкачественных глиом, выполненного под руководством проф. Coburger. В анализ было включено 288 пациентов с Grade II глиомами. Было показано, что увеличение радикальности хирургии не сопровождалось значимым увеличением послеоперационного неврологического дефицита. GTR является прогностическим фактором для безрецидивного периода у пациентов с LGG. Применение высокопольной иМРТ значимо для достижения GTR в хирургии глиом Grade II [84-86].

Помимо стандартных последовательностей (T1, T2, FLAIR, FISP, PSIF) интраоперационные высокопольные магнитно-резонансные томографы позволяют выполнять МР-ангиографию, протонную магнитно-резонансную спектроскопию, диффузионно-тензорную и диффузионно-взвешенную МРТ [236].

В 2017 году опубликована работа о применении 1,5 Тл интраоперационного МРТ сканера в хирургии глиобластом в серии, включающей 114 пациентов, которые были разделены на 2 группы (с и без применения метода). В результате исследования было выявлено, что пациенты, оперированные с применением иМРТ при первом интраоперационном сканировании имели GTR только у 39,7% случаев, остаточная опухоль была выявлена у 60,3%. При дополнительной резекции частота GTR увеличилась до 88,5%. Шестимесячная безрецидивная выживаемость составила 73% в группе с интраоперационной МРТ по сравнению с 38,9% у группе без иМРТ [205]. Медиана общей выживаемости для пациентов с глиобластомами, у которых использовалось интраоперационное МРТ, увеличивается до 20 месяцев за счет более радикальной резекции по сравнению с 10 месяцами у больных, оперированных без применения интраоперационной МР-томографии [212]. Метод интраоперационной МРТ успешно сочетается с нейрофизиологическим мониторингом, в том числе и хирургией с краниотомией в сознании [304].

Применение нейронавигационных систем, 5-АЛК или флуоресцеина, УЗИ и МРТ увеличивает частоту GTR до 36%, 69,1%, 84,4% 73,4%, 70% соответственно [198]. При опросе 310 участников членов EANS о применении методов

интраоперационной нейровизуализации в хирургии глиом головного мозга было выявлено значительное предпочтение иМРТ (для любых глиом) и 5-АЛК (для злокачественных глиом) над УЗИ, флуоресцеином натрия и интраоперационной КТ [84]. В хирургии НГГ при использовании 5-АЛК частота GTR увеличилась с 36% до 74,5%, а при использовании флуоресцеина натрия – до 84,4% (разница между 5-АЛК и флуоресцеином натрия статистически незначимая) [167].

1.3 Краткая история развития метода флуоресцентной диагностики

В 1947 году опубликовано первое клиническое сообщение о применении флуоресцеина во время нейрохирургических операций при опухолях головного мозга (N=46) [218]. В данной работе был описан эффект накопления данного вещества в опухолевой ткани, что до появления методов нейровизуализации способствовало более точному определению локализации опухоли во время оперативного вмешательства. Накопление флуоресцеина было связано с нарушением проницаемости гемато-энцефалического барьера, и при его введении могла окрашиваться как опухолевая ткань, так и прилегающие структуры.

В конце 90-ых годов появились первые данные о возможности применения 5-АЛК (5-аминолевуленовой кислоты) в нейрохирургии [282]. В дальнейшем было доказано, что более интенсивное накопление ПП IX (протопорфирина IX) в опухолевых клетках связано не только с увеличением проницаемости ткани для 5-АЛК, но и с усилением захвата 5-АЛК опухолевыми клетками, изменением активности ферментов, катализирующих трансформацию PpIX в гем [146]. При введении препарата 5-АЛК внутрь наблюдается преимущественное накопление ПППХ в ткани опухоли, а соотношение степени флуоресценции опухоли и окружающей нормальной ткани достигает максимума (от 10:1-15:1 до 20:1-50:1) через 2 часа после введения [281]. Принцип метода заключается в селективном накоплении большого количества протопорфирина IX в клетках злокачественной опухоли в условиях избыточной концентрации 5-АЛК, при этом в клетках здорового мозга ПП IX накапливается в незначительных количествах или не накапливается совсем [144; 231].

Хорошо известно, что одним из ключевых факторов прогноза при внутримозговых опухолях, помимо возраста и функционального статуса пациента, является радикальность удаления опухоли [16]. В ходе клинического исследования III фазы, проведенного Группой по изучению применения 5-АЛК при глиомах, было продемонстрировано, что 5-АЛК-флуоресцентная навигация позволяет увеличить частоту радикальной резекции злокачественных глиом по сравнению с традиционной микрохирургией (65% и 35% соответственно), при этом авторы добились удвоения 6-месячной безрецидивной выживаемости (41,0% против 21,1%) [282].

Согласно данным Ferraro et al., 2016, основанных на метаанализе 22 публикаций (1990-2014), посвященных хирургии опухолей головного мозга с 5-АЛК и включающий серию из 1163 пациентов с глиомами (глиомы составили основную когорту пациентов – 73% или 849 случаев), менингиомами и метастазами головного мозга чувствительность ФД составила 85% для HGG, 81% для интракраниальных менингиом (128/158), и 42-59% при церебральных метастазах (в основном при небольших сериях пациентов, включающих, в основном рак молочной железы и рак легкого, остальные раки - единичные), а при LGG - 3% (!). Специфичность составила 100% при менингиомах, 84% при интракраниальных метастазах и 82% при HGG. При волюметрии GTR составила 66,2% для всех глиом, 69,6% - менингиом [126].

1.4 Хирургия с ФД глиом высокой степени злокачественности

В хирургии глиом высокой степени злокачественности (Grade III-IV) принципы флуоресцентной диагностики были подробно описаны в работах проф. W. Stummer с соавт. [282]. Чувствительность метода ФД в хирургии данного подтипа глиом варьирует от 80 до 90% [119; 139; 216]. По данным Notably (2016) чувствительность 5-АЛК в хирургии глиобластом составляет 99/103 (96,4%), а по данным Marbacher – 88,4% при HGG и 40% при LGG [202].

При подсчете общей чувствительности ФД с 5-АЛК одновременно для глиом Grade III и IV она составила не более 85% [126]. Частое и яркое окрашивание

глиобластом по сравнению с другими опухолями обусловлено высокой экспрессией фермента копропорфириноксидазы, участвующей в биосинтезе гема [289]. Аккумуляция препарата в HGG неоднородна и повышается в наиболее агрессивных участках опухоли с высоким пролиферативным потенциалом [296].

Остается невыясненным до конца вопрос относительно причины отсутствия флуоресцентного эффекта у флуоронегативных глиом высокой степени злокачественности (что встречается в 10-30% случаев по данным разных авторов). Кроме того, до конца не изучена взаимосвязь флуоресценции с такими факторами, как молекулярно-генетический профиль глиомы (прежде всего статус IDH-1), время приема препарата до операции, прием противосудорожных и противоотечных препаратов. В литературе описаны препараты, ингибирующие и индуцирующие флуоресценцию *in vitro*, в частности витамин D усиливает флуоресцентный эффект [238], а дексаметазон и противосудорожные препараты, за исключением левитирацетама, – подавляют [185].

При сравнении границ распространения злокачественных глиом с помощью флуоресцентной навигации и нейронавигационной системы границы флуоресценции опухоли оказывались больше, особенно при глиомах больших размеров и опухолях с продолженным ростом в 43% случаев [105-106]. Аналогичная ситуация отмечается при сравнении интраоперационной МРТ и 5-АЛК навигации в хирургии злокачественных глиом головного мозга [314].

При выполнении МРТ после операции остаточная опухоль выявлялась в случаях наличия остаточной флуоресценции. При отсутствии остаточной флуоресценции злокачественной глиомы во время операции, в послеоперационном периоде остатков опухоли не выявлялось [284]. При удалении контраст-накапливающей части глиомы Grade III-IV (по данным послеоперационного МРТ с КВ) и отсутствии остаточной флуоресценции в конце основного этапа операции общая выживаемость больных была выше, чем при аналогичной ситуации, но с наличием остаточного свечения [43].

В результате метаанализа, посвященного ФД с 5-АЛК в хирургии глиобластом (565 пациентов, 503 публикации, 2015) было выявлено, что средняя частота GTR

составила 75,4% (95% CI: 67,4-83,5, $p < 0,001$). Среднее время до прогрессии опухоли составило 8,1 месяц (95% CI: 4.7-12, $p < 0,001$), специфичность – 88,9% (95% CI: 83,9-93,9, $p < 0,001$), а чувствительность 82,6% (95% CI: 73.9-91.9, $p < 0,001$) [119].

В хирургии глиом головного мозга с продолженным ростом чувствительность и специфичность метода интраоперационной метаболической навигации с 5-АЛК требует уточнения. При исследовании 354 биоптатов, взятых в местах с положительной видимой флуоресценцией от 40 пациентов авторы выявили ложно-положительные биоптаты только в 12 случаях или в 3,4% с наличием видимого свечения при отсутствии опухолевых клеток [226]. Описаны наблюдения видимой флуоресценции при демиелинизирующих заболеваниях и лучевых некрозах после проведения радиотерапии. Ложно-положительные результаты могут быть объяснены инфильтрацией перифокальной области реактивными астроцитами и макрофагами, аккумулирующими 5-АЛК [226].

1.5 Применение метаболической навигации с 5-АЛК в хирургии глиом низкой степени злокачественности

Ряд авторов считают, что применение 5-АЛК в хирургии LGG не оправдано ввиду низкой чувствительности, при этом ее диапазон варьирует от 0% до 40% [202]. Marbacher et al. опубликовали одну из самых больших серий с флуоресценцией в мире (458 пациентов) и выявили, что частота флуоресценции среди глиом высокой степени злокачественности была намного выше, чем при глиомах низкой степени злокачественности (88,4% против 40%) [202]. Примечательно, что 99 (96,4%) из 103 случаев с глиобластомой были положительными для 5-АЛК. Это позволяет сделать вывод что флуоресценция опухоли связана с ее злокачественностью [202].

В хирургии глиом низкой степени злокачественности использование флуоресцентной диагностики имеет единичные примеры, эффективность метода обсуждается [284]. В исследовании Sanai чувствительность 5-АЛК при доброкачественных глиомах составляет 16% [258], макроскопическая

флуоресценция в микроскопе отсутствовала у всех 9 пациентов с глиомами Grade II. Тем не менее, при визуализации с помощью конфокальной микроскопии микроскопический флуоресценция была в 100% случаев. Эти результаты показывают, даже глиомы Grade II имеют некоторый уровень поглощения 5-АЛК [258].

Фокусы свечения в LGG ряд авторов относит к зонам анаплазии и предлагает считать данную зону опухоли, как Grade III. Так Widhalm et al. сообщили, что 5-АЛК является надежным маркером анапластичности опухоли (чувствительность = 89%; специфичность = 88%; положительная прогностическая ценность = 85%; отрицательная прогностическая ценность = 91%) [307].

В дальнейшем Valdes et al. показали, что интенсивность флуоресценция является показателем степени злокачественности внутри опухоли [295]. Процесс перехода глиом Grade II в III широко изучается в мировой литературе в аспекте флуоресцентной диагностики [295].

Существующая теория о глиомах головного мозга с анапластическими фокусами нашла свое отражение в концепции intermediate grade [110].

В работах G. Widhalm et al. (2013) была показана неоднородность накопления 5-АЛК в глиомах Grade II-III при прицельном взятии биопсии из наиболее агрессивной части глиомы, по результатам которой опухоль Grade III [307] (Рисунок 1).

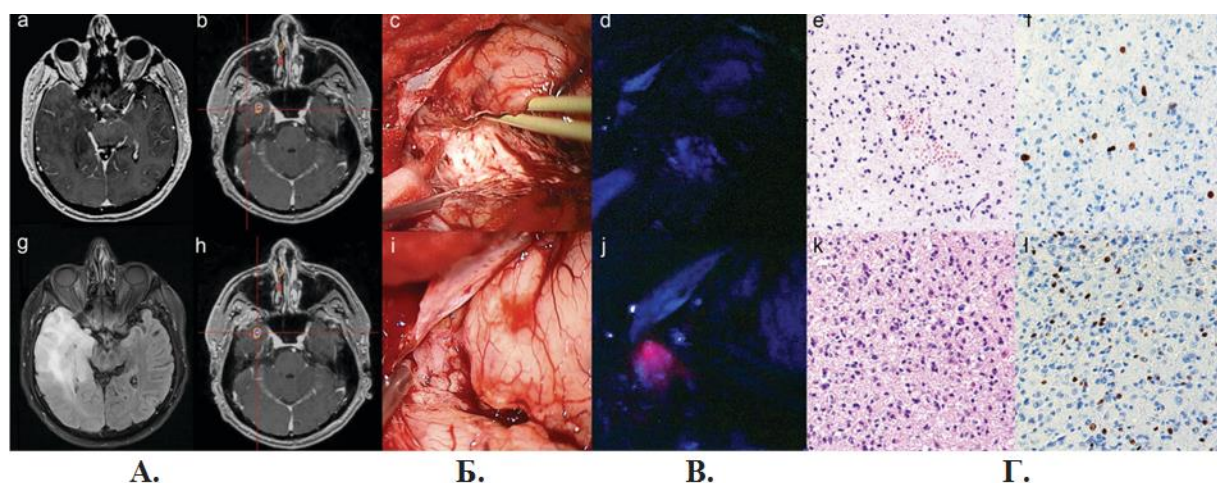


Рисунок 1 – Наблюдение пациента с неконтрастирующейся глиомой правой височной доли (G. Widhalm et al 2013 [307]): А. – МРТ головного мозга; Б. - Интраоперационная фотография в белом свете; В. – интраоперационная флуоресцентная диагностика; Г. – гистологические препараты (выявлен фокус анаплазии с накоплением 5-АЛК)

Термин “анаплазия” был введен немецким ученым-патологом Von Hansemann в 1898 году, когда он обнаружил низкую дифференцировку опухолевых клеток по сравнению с клетками-предшественниками. По наблюдениям Duffau Н. в 30% случаях глиом Grade II имеют место микро- (<1см) либо макрофокусы (>1см) опухоли имеющие высокую клеточную плотность, или в ряде случаев клеточную атипию, нередко повышенный индекс Ki-67. Эти фокусы могут быть либо единственными либо множественными [110]. Однако в данных случаях достаточных оснований для постановки диагноза глиома Grade III нет. Данные опухоли имеют более агрессивное биологическое поведение и явную тенденцию к анапластической трансформации, и как следствие ведение таких пациентов должно отличаться от ведения пациентов с классическим типом опухоли Grade II. Одним из серьезных ограничений классификации глиом является попытка выделить опухоль либо в Grade II, либо в Grade III, вследствие чего французские авторы предлагают ввести так называемую концепцию “intermediate grade”.

Применение ФД позволяет интраоперационно выявлять фокусы анаплазии в

неконтрастирующихся по данным МРТ глиомах. Однако, остается до конца неясным может ли данный очаг накопления являться участком Grade III в структуре Grade II глиомы или его морфологические характеристики не отличаются от остальной нефлуоресцирующей части опухоли.

1.6 Сравнительный анализ эффективности использования интраоперационной нейровизуализации в хирургии глиом головного мозга

При исследовании различных техник интраоперационной нейровизуализации (иКТ, иМРТ, УЗИ, флуоресценция, нейронавигация), проведен поиск в системе MEDLINE, с 1946 по 2017г. В результате выявлено четыре рандомизированных контролируемых исследования: 2 с интраоперационным МРТ (58 и 14 участников), 1 продолжающееся исследование по применению иМРТ (304 участника), 1 исследование для 5-АЛК (322 участника), 1 исследование для нейронавигации (45 участников). Рандомизированные исследования по применению иУЗИ отсутствуют. Все исследования включали пациентов с глиомами высокой степени злокачественности. Только в 1 исследовании иМРТ доказано увеличение степени резекции глиом. Второе исследование о применении иМРТ имеет недостаточную доказательную базу. Исследование нейронавигации имеет недостаточно данных для оценки влияния на степень резекции глиомы. Не было четких доказательств улучшения общей выживаемости с 5-АЛК [153].

Неотъемлемым ограничением является относительная нехватка исследований, о применении 5-АЛК в отношении НГГ с по сравнению с пациентами, оперированными в белом свете. Большинство исследований, отобранных для окончательного анализа, имели критерии включения, которые ограничивали участие пациентов теми, у кого опухоли считались полностью резектабельными. Это выявляет пристрастный выбор, поскольку опухоли в пределах или вблизи функционально значимых зонах (ФЗЗ) были не представлены [153].

В то время как другие хирургические технологии, такие как интраоперационное картирование коры и трактография, могут помочь в хирургии

глиом в ФЗЗ, степень резекции в этих случаях зависит от комплексных факторов, включая готовность пациента к нарастанию неврологического дефицита и их желание максимизировать выживаемость. В конечном счете, выбор хирургического подхода, дополнений и целей операции при глиоме высокой степени должен быть адаптирован к ценностям отдельного пациента. Примером идеального кандидата для комбинированной резекции 5-АЛК + iMRI может быть подозрение на HGG в недоминантной лобной, височной или затылочной доле [140].

Данные по качеству жизни были доступны только для одного исследования и содержали доказательства очень низкого уровня. Технологии интраоперационной визуализации, в частности, использование iMRI и 5-АЛК, могут быть полезны для увеличения степени резекции опухоли у пациентов с HGG. Тем не менее, это основано на фактических данных низкого и очень низкого качества и, следовательно, является очень неопределенным [153]. Краткосрочные и долгосрочные неврологические исходы являются неопределенными. Влияние хирургии на основе изображений на общую выживаемость, выживаемость без прогрессирования заболевания и качество жизни не ясны. Краткий экономический анализ выявил ограниченные экономические доказательства сомнительного использования iMRI по сравнению с обычной хирургией [153].

Кроме того 5-АЛК в странах Европейского Союза является дорогостоящим препаратом [153]. В связи с этим актуальным представляется поиск механизмов прогнозирования флуоресцентного эффекта до операции с помощью современных методов нейровизуализации.

По сравнению со стандартной хирургией использование хирургии с визуальным контролем оказывает неопределенное влияние на экономические затраты. Таким образом, необходимы дальнейшие исследования о необходимости применения 5-АЛК в хирургии глиальных опухолей головного мозга [153].

В двух исследованиях, комбинация 5-АЛК и iMPT дала статистически значимое увеличение степени резекции по сравнению с одним iMPT [84-86] или только с 5-АЛК [261]. Это иллюстрирует синергизм между этими двумя

инструментами. Например, в то время как накопление флуорофора в клетках глиомы позволяет в реальном времени визуализировать фрагменты опухоли, эта же ткань может не флуоресцировать. С добавлением iMRI мы можем впоследствии оценить, что остаточная опухоль, накапливающая контраст, находится за пределами зон прямой визуализации. Другой вариант включает возможность отсутствия накопления протопорфирина частью глиомы вследствие гетерогенности опухоли (например, в случае вторичной глиобластомы) [123; 249].

1.7 Исходы хирургии глиом головного мозга с использованием 5-АЛК

За последнее десятилетие было показано, что степень резекции в хирургии глиом приводит к улучшению общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования [204]. Хотя конечный показатель общей выживаемости относительно прост для понимания, значение выживаемости без прогрессирования заболевания состоит в том, что эти пациенты не только живут дольше, но и что их функциональное состояние и качество жизни будут оставаться стабильными в течение этого периода. Однако, в нейрохирургии не менее важным является степень резекции как первичная конечная точка исследования.

Связь метаболической навигации с 5-АЛК с объемом резекции опухоли в хирургии злокачественных глиом

В известной работе Stummer [283] в серии пациентов, включающей 52 глиобластомы, было доказано увеличение GTR до 63,5%. В 2006 году при мультицентровом исследовании 322 пациентов, разделенных на 2 группы (5-АЛК vs резекция в белом свете) показано достижение GTR в 65% в группе 5-АЛК против 36% в группе белого света у пациентов с HGG [380]. Проф. Diez Valle et al. сообщил на меньшей серии (36 пациентов с глиобластомами, из них 8 рецидивные, 28 первичные) о достижении GTR в 83% наблюдений. При этом чувствительность для солидной части опухоли составила 100%, для инфильтративной зоны – 97%, специфичность – 66% [137]. К сожалению, увеличения степени резекции для LGG с помощью 5-АЛК добиться не удалось [295].

Метаанализ, выполненный Haider SA (2019), посвященный анализу влияния 5-АЛК в хирургии HGG на степень резекции, включал 741 исследование с 1998 по 2018 гг. [140]. Из них только 8 статей удовлетворило строгие критерии авторов. Из них только 6 работ показали значимое увеличение степени резекции опухоли, в остальных 2 статьях показано только значимое увеличение безрецидивного периода [140]. Более подробные данные о влиянии хирургии с 5-АЛК на радикальность операций, безрецидивную и общую выживаемость приведены ниже (Таблица 2).

Таблица 2 - Данные литературы о выживаемости и радикальности операций при использовании 5-АЛК

Авторы	Кол-во больных	6-месячная безрецидивная выживаемость, %		Общая выживаемость, мес		Радикальность удаления, %	
		Без ФД	С ФД	Без ФД	С ФД	Без ФД	С ФД
Stummer/2006 [282]	322	21,1%	41%	-	-	36%	65%
Stummer/2011 [284]	349	28,3%	46%	13,7	14,3	-	-
Diez Valle/2011 [107]	243	-	68%	-	-	-	83,3%
Schucht/2012 [267]	56	-	-	-	-	-	89%
Deiz Valle/2013 [107]	251	48%	69%	-	-	45%	67%
Slotty/2013 [276]	253	-	-	16,6	20,1	27%	48,5%
Roder/2013 [253]	66	-	45%	-	-	-	46%
Della Puppa/2014 [106]	94	-	-	-	-	-	93%

В группе пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с использованием метаболической навигации, отмечалось значимо большая частота радикальности оперативных вмешательств [107; 276; 284], увеличения общей выживаемости на 3,5 мес. [276], 6 - месячной безрецидивной выживаемости

[107; 282]. Более подробный анализ факторов, влияющих на флуоресценцию злокачественных глиом проведен ранее [106].

Кроме того, часть работ не содержит данные об объемах резекций в белом свете. В литературе встречаются работы о сочетанном применении 5-АЛК и иМРТ на объемы резекций злокачественных глиом (Таблица 3).

Таблица 3 - Обзор работ о применении 5-АЛК в хирургическом лечении НГГ в сравнении с резекциями в белом свете (WL) и интраоперационным МРТ (iMRI)

Автор	Год	Методы	N
Stummer et al.	2006	5 АЛК / WL	161/161 [282]
Tsugu et al.	2011	5 АЛК /5АЛК+ iMRI	11/10 [292]
Eyupoglu et al.	2012	5 АЛК +iMRI/ iMRI	37 [123]
Roder et al.	2014	iMRI /5 АЛК / WL	27/40/66 [253]
Coburger et al.	2015	5 АЛК+iMRI/ iMRI	33/144 [84-86]
Della Puppa et al.	2014	5 АЛК ФЗЗ/ 5 АЛК не ФЗЗ	94/61 [105-106]
Kim et al.	2014	5 АЛК/ WL	40/40 [171]
Schatlo et al.	2015	5 АЛК	145/55 [261]

Примечания: ФЗЗ – функциональные зоны

Группа Eyupoglu из Германии сообщила о своем опыте у 37 пациентов с НГГ, которым была сделана резекция с использованием 5-АЛК в сочетании с иМРТ; они описывают эту комбинацию как «двойной интраоперационный подход к визуализации». Для глиом, которые до операции считались полностью резектабельными, добавление iМРТ к 5-АЛК увеличивало степень резекции с 71,7 до 100%. При изучении глиом вблизи ФЗЗ, применение iМРТ также увеличивает степень резекции с 57,6 до 71,2% [123]. Чтобы противопоставить эти выводы, Roder и соавт. [253] сравнивали каждый интраоперационный инструмент изолированно только для уточнения показателей GTR. В результате в ретроспективном анализе резекций глиобластом в группе iМРТ удаление контрастируемой части опухоли достигнуто в 74% случаев, в то время как в группе, получавшей только 5-АЛК, GTR - только у 46% пациентов. Это еще раз подчеркивает комплементарность iМРТ к 5-АЛК как методов интраоперационной нейровизуализации.

При другом метаанализе, включающем 19 исследований с волнометрическим анализом (998 пациентов) с глиомами головного мозга, оперированными с 5-АЛК, общая частота достижения GTR составила 76,8% в группе с 5-АЛК (доверительный интервал 95%, 69,1-82,9%) [133]. Для исследования влияния 5-АЛК на выживаемость было отобрано 11 исследований, в том числе 4 с известными результатами безрецидивной выживаемости при глиомах, оперированных с 5-АЛК. Показано значимое увеличение общей выживаемости на 3 мес и безрецидивной – на 1 мес. Данный метаанализ показывает значительное увеличение частоты GTR при хирургической резекции с 5-АЛК, с более высокой взвешенной частотой GTR (~ 76%), чем в исследовании III фазы Stummer (2006) - (~ 65%) [133].

Объединенный анализ показал небольшое, но значительное увеличение показателей выживаемости, связанных с использованием 5-АЛК (в большей степени для общей выживаемости) [133]. Несмотря на статистически значимые результаты, низкий уровень фактических данных и неоднородность в этих исследованиях затрудняют достоверную информацию о независимой связи между использованием 5-АЛК и результатами выживаемости в хирургии злокачественных глиом [133].

При дополнительном анализе GTR в испанском национальном исследовании VISIONA, выполненном под руководством проф. Diez Valle (2013) установлено, что GTR достигнута в 67% с 5-АЛК против 45% при операциях в белом свете, разница была значимой [107], позже эти данные воспроизвел Slotty с соавт. (2013) [276]. Похожая закономерность была получена для 6 месячного безрецидивного периода: в VISIONA 69% против 48% ($p=0.01$). В тоже время Slotty et al. при исследовании выживаемости сумели показать значимое увеличение общей выживаемости у 253 пациентов с глиобластомами (20,1 мес. и 16,6 мес.), при этом медиана общей выживаемости составила 15 мес. в группе с 5-АЛК [276].

Авторы отмечают ограничения метода в случае слабо выраженного свечения при микроскопии, также важно, что опухоли Grade III имеют меньшую концентрацию наработанного протопорфирина IX [188-190]. Интересно отметить что 3 из 20 глиобластом в серии Tsugu не светились [292]. Из других ограничений

метода отмечаются ложноположительные свечения при рецидивах злокачественных глиом [294] вероятно, вследствие нарушения проницаемости ГЭБ за счет предшествующих хирургии, лучевой и химиотерапии. К сожалению, 5-АЛК не может иметь 100% специфичность [188-190].

Влияние 5-АЛК на выживаемость у пациентов с глиомами

Несмотря на то, что 5-АЛК способствовал достижению полноты резекции (отношение шансов: 3,19, $P = 0,01$, 95% ДИ: 1,28, 7,93), флуоресценция не оказывала влияния на общую выживаемость или выживаемость без прогрессирования [153].

Аналогичные данные получены другими авторами. Так подчеркивается важность комбинации метода флуоресцентной диагностики с 5-АЛК с и МРТ [261]. В работе Schatlo (2015) на серии, включающей 200 пациентов с НГГ выполнена сравнительная оценка объемов резекции и данных выживаемости у пациентов с иМРТ и 5-АЛК и только с 5-АЛК. В результате было выявлено, что медиана общей выживаемости составила 13,8 месяца в группе только с 5-АЛК, и 17,9 месяца в группе, с иМРТ и 5-АЛК ($P = 0,043$). Однако, выявив смешанные переменные (например, баллы по шкале Карновского и степень резекции) в этом одномерном анализе, авторы затем скорректировали эти факторы в многомерном анализе и устранили это различие в общей выживаемости (отношение рисков: 1,23, $P = 0,34$, 95% ДИ: 0,81, 1,86) [261].

Влияние 5-АЛК на неврологический дефицит у пациентов с глиомами

При сравнительном анализе послеоперационного неврологического дефицита было показано, что он встречается у 24% в группе 5-АЛК против 15% в группе контроля. Однако, на 7 сутки, через 6 недель и 6 месяцев между 2 подгруппами не отмечалось значимых отличий в частоте неврологического ухудшения [282].

В группе VISIONA отмечалось значимое преобладание гемианопсии и афазии после хирургии в группе с 5-АЛК по сравнению с группой контроля [107]. При использовании 5-АЛК в хирургии злокачественных глиом по сравнению с операциями в белом свете отмечается нарастание неврологического дефицита в среднем у 8,2% пациентов [107].

При анализе 170 операций пациентов с НГГ было установлено, что степень резекции обычно не оказывала значительного влияния на качество жизни ($p = 0,10$). Тем не менее, пациенты, у которых была субтотальная резекция по сравнению с пациентами с биопсией опухоли, показали значительно лучшее качество жизни, и когнитивные функции ($p < 0,01$ соответственно). При комбинации iМРТ и 5-АЛК частота достижения полной резекции контрастируемой части достигала максимальных значений (95%), далее следовала только iМРТ (94%), только 5-АЛК (74%) и отсутствие визуализации (73%). Таким образом, неврологические симптомы после операции были наименьшими, а функциональный балл - наивысшим после комбинированного применения iМРТ и 5-АЛК без достижения значимости ($p = 0,59$) [229].

Таким образом, у пациентов с НГГ субтотальная резекция по сравнению с биопсией была достоверно связана с лучшим качеством жизни после операции и меньшим количеством неврологических осложнений. Более широкое использование интраоперационной визуализации увеличивает степень резекции опухоли со стабильным или немного лучшим качеством жизни и меньшим количеством неврологических осложнений [229].

1.8 Расширение показаний к применению 5-АЛК при неглиальных опухолях головного мозга

Первые работы о возможности применения 5-АЛК в нейрохирургии в конце 90-ых годов были посвящены злокачественным глиомам [282]. В настоящее время 5-АЛК применяется в хирургии других опухолей головного и спинного мозга как у детей, так и у взрослых, в частности, при менингиомах [87; 91; 93; 214]; метастазах

[61; 164-166; 202; 294], нейроцитомах [278], эпендимомах [118]. Среди работ, посвященных ФД с 5-АЛК в хирургии опухолей ЦНС, наиболее крупная серия пациентов представлена в работе Marbacher 2014 (n=458) [202].

В последующих работах в мировой литературе появились публикации о применении 5-АЛК в спинальной нейроонкологии [134]; в детской нейроонкологии [53; 57], у пациентов с лимфомами головного мозга как при открытых операциях так и при стереотаксических биопсиях [315] (Таблица 4).

Таблица 4 - Применение 5-АЛК в микрохирургии некоторых опухолей ЦНС.

Автор	Год	Гистология	N
Yamamoto J [315]	2015	Лимфома	Case report
Inoue T [151]	2013	Спинальные эпендимомы	9
Skjøth-Rasmussen J [274]	2015	Медуллобластома у ребенка	Case report
Della Puppa A [105]	2014	Медуллобластома у взрослого	Case report
Song SW [278]	2014	Нейроцитома	Case report
Millesi M [214]	2016	Внутричерепные менингиомы	204
Millesi M [215]	2020	лимфомы	55
Bernal García LM [64]	2015	Субэпендимома IV желудочка	2
Bernal García LM [64]	2015	Менингосаркома	1
Choo J et al. [82]	2018	Пилоидная астроцитома	1
Choo J et al. [82]	2018	Герминома	1

1.9 Флуоресцентная диагностика в хирургии интракраниальных менингиом

Впервые флуоресцентную навигацию при удалении менингиомы с высоким риском рецидива применили Y. Kajimoto et al. [162] в 2007 г. Работы с наиболее крупными сериями менингиом, оперированных с применением флуоресцентной навигации с 5-АЛК, опубликованы Millesi M и включают 204 менингиомы [214]; Collucia et al. (33 пациента) [87], Kajimoto et al. (27 пациентов) [162]. Последующие публикации серий наблюдений были включены N. Foster et al. [130] в метаанализ,

обобщающий результаты применения интраоперационной ФД у пациентов с менингиомами различной локализации.

Как показал специальный метаанализ работ по оценке флуоресцентного метода в хирургии менингиом [130], флуоресцентный эффект наблюдается в 95% случаев всех менингиом независимо от их гистологического типа, степени злокачественности и локализации (95% ДИ 91,8—97,7%). Применение флуоресцентной навигации в хирургии менингиом являются очень специфичным и крайне чувствительным методом (95%). Не было обнаружено корреляционной зависимости между степенью Grade (I-III) менингиом и флуоресценцией ($p > 0,05$). Применение флуоресцентной диагностики позволило изменить тактику интраоперационного удаления (увеличения границ резекции) в 75% случаев злокачественных и в 19% доброкачественных менингиом, является высоко специфичным и чувствительным методом в дифференциации гипертрофии и инвазией опухолью подлежащих костей и твёрдой мозговой оболочки [130].

Однако, по данным публикаций [214], посвященных анализу двух крупных серий операций с использованием флуоресценции, не вошедших в этот метаанализ, чувствительность флуоресценции при менингиомах составляла, соответственно 77 и 91% [202]. Кроме того, некоторыми авторами [93] показано, что интенсивность флуоресценции менингиом зависит от степени их злокачественности.

ФД с 5-АЛК может быть полезным для выявления инвазии видимо неизмененных твердой мозговой, арахноидальной оболочек мозга и подлежащей кости опухолью, в хирургии менингиом основания черепа, атипических менингиом и опухолей с высоким риском рецидива [58; 93; 106; 162; 221; 305]. Данные этих исследований приведены ниже (Таблица 5, Рисунок 2).

Таблица 5 - Список публикаций о применении флуоресценции при интракраниальных менингиомах

Автор	№	Флуоресценция/ Grade I	Флуоресценция/ Grade II III	Чувствительность
Kajimoto et al. 2007	24	15 / 18	5 / 6	83.3% [162]
Collucia et al. 2010	33	24 / 26	7 / 7	93.9% [87]
Tan and Eljamel 2010	26	22 / 23	3 / 3	96.2% [120]
Eicker et al. 2013	8	7 / 8	0 / 0	87.5% [118]
Moriuchi et al. 2013	17	17 / 17	0 / 0	100.0%
Valdes et al. 2014	15	8 / 11	4 / 4	80.0% [296]
Puppa et al. 2014	12	10 / 10	2 / 2	100.0% [106]
Cornelius et al. 2014	31	17 / 19	12 / 12	93.5% [93]
Marbacher et al. 2014	110	73 / 94	12 / 16	77.3% [202]
Millesi et al 2016	190 (204)	134 /150	38/40	90.1% [214]
Total:	480	88.2%	90.5%	88.9%

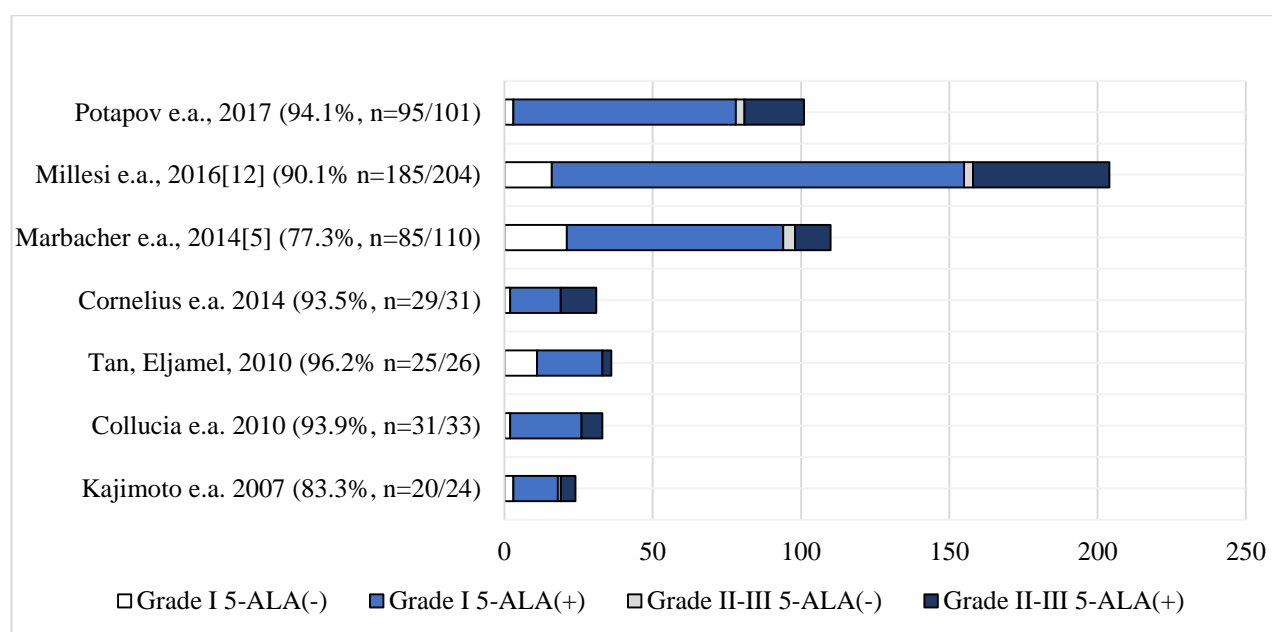


Рисунок 2 - Чувствительность метаболической навигации в хирургии менингиом разной степени злокачественности

Самая крупная серия пациентов (204 менингиомы) с интракраниальными менингиомами, оперированными с 5-АЛК, описана Millesi и соавт [214]. Согласно данным исследования, метаболическая навигация может быть использована для интраоперационной визуализации внутричерепных менингиом, особенно при рецидивных опухолях, опухолях основания черепа, при инфильтрации сосудов и подлежащей кости. Флуоресценция протопорфирина IX наблюдалась в 185 случаях из 204 менингиом [214]. В группе сфено-орбитальных менингиом (12 из 204 случая), флуоресценция твёрдой мозговой наблюдалась в 9 случаях [278]. Среди всех флуоресцирующих менингиом, у 168 (91%) пациентов отмечалось значительное накопление протопорфирина IX. Как правило, большинство опухолей светятся гомогенно (75% случаев). Не наблюдалось ни одного случая флуоресценции среди 89 исследуемых «дуральных хвостов» [214]. Поражённая опухолью кость визуализировалась во всех 13 случаях [214]. Свечение прилежащей коры отмечалось в 20 (25%) случаях из 80-ти анализированных по этому показателю больных [214]. Таким образом, дополнительное обнаружение фрагментов опухоли позволяет снизить риск рецидива заболевания [214].

Выборка J.F. Cornelius состоит из 19 Grade I, 8 Grade II и 4 Grade III опухолей (61 % доброкачественные и 39 % злокачественные менингиомы.) Флуоресценция наблюдалась в 94 % наблюдений. Отсутствие свечения наблюдалось в 2-ух случаях, умеренное свечение - в 17 и яркое - в 12 случаях. Отмечена корреляционная зависимость между степенью флуоресценции и Grade опухоли ($r = 0.557$, $p = 0.001$). Были изменены объёмы резекции в 3/16 случаях Grade I и в 6/8 Grade II менингиом, оперированных под контролем флуоресцентной навигации [93].

Wilbers et al. [308] отмечает пользу метода в резекции инфильтративной части злокачественных менингиом, растающих в ТМО и мозговое вещество. Прилежащая паутинная оболочка может быть источником рецидива опухоли, несмотря на макроскопически полную резекцию опухоли. Инфильтративный рост менингиомы - это важный фактор прогноза для пациента даже с опухолью Grade I

[308]. Полное удаление злокачественной менингиомы также важный факт в прогнозе заболевания. Таким образом, 5-АЛК может помочь улучшить прогноз у пациентов с инвазией при доброкачественных менингиомах, а также у пациентов с менингиомами Grade II-III [308].

По мнению ряда авторов [305], ФД эффективна в хирургии менингиом основания черепа, при высоком риске рецидива опухоли, инфильтрации сосудов и подлежащей кости. Вместе с тем известно, что наличие гиперостоза не всегда означает инвазию кости опухолью [39]. А. Della Puppa et al., [106] в серии из 12 пациентов с интракраниальными менингиомами (10 из которых были с гиперостозом) выполнили анализ 98 костных биопсий из светящихся и несветящихся участков кости. В результате работы было установлено, что чувствительность и специфичность 5-АЛК в выявлении инвазии кости опухолевыми клетками в хирургии интракраниальных менингиом составляют 89 и 100% соответственно. В 7 (13%) из 41 биоптата нефлуоресцирующей кости автор обнаружил опухолевые клетки [106]. Вероятно, степень флуоресценции может зависеть от количества опухолевых клеток в единице объема ткани. Интересно отметить, что, по данным этого же автора, может наблюдаться свечение кости без признаков гиперостоза, что указывает на ее опухолевое поражение [106].

В работе J. Knipps et al. [174] были изучены 104 биоптата из 13 менингиом, флуоресценция которых оценивалась с помощью микроскопа, а также миниспектрометра *ex vivo*. Исследования показали, что чувствительность и специфичность метода с применением микроскопа составили 96% и 53%, а с применением миниспектрометра — 95 и 93% соответственно. В небольших сериях других авторов имеются сходные данные о высокой чувствительности метода лазерной спектроскопии в хирургии менингиом [186].

Вместе с тем, несмотря на высокую чувствительность флуоресценции, остается до конца неясной целесообразность применения 5-АЛК при удалении интракраниальных менингиом вследствие того, что данная опухоль является хорошо отграниченной от мозга. Остается до конца неясными факторы, влияющие на эффект свечения солидной части опухоли и зоны гиперостозов, а также

потенциальная польза флуоресценции во время удаления интракраниальных менингиом. Остаются предметом дискуссии особенности флуоресценции гиперостатических конвекситальных и краниобазальных менингиом, гипертрофированной ГМО по периметру матрикса опухоли, оболочек и мозговой ткани в ложе удаленной опухоли и др. До конца не изучена роль флуоресцентной спектроскопии в хирургии интракраниальных менингиом. Все это указывает на необходимость дальнейшего поиска возможных причин, оказывающих влияние на флуоресцентный эффект или его отсутствие, что позволит повысить чувствительность этого метода и уточнить показания к его применению в хирургии менингиом.

1.10 Флуоресцентная диагностика в хирургии интракраниальных метастазов

Впервые интраоперационная флуоресцентная диагностика с 5-АЛК у пациентов с метастатическими опухолями головного мозга применена Utsuki S. et al. в 2007 году [294]. В данной работе видимая флуоресценция была зарегистрирована в 9 из 11 случаев. Во всех случаях с видимой флуоресценцией опухоли наблюдалось менее выраженное по интенсивности свечение вокруг очага. Злокачественные клетки по результатам гистологического исследования были обнаружены в 2 из 27 образцов ткани, взятой из зоны перифокальной флуоресценции. Применение данного метода интраоперационной диагностики различными коллективами авторов и накопление данных о характеристиках флуоресценции все еще не позволяют сделать однозначный вывод о рациональности использования интраоперационной флуоресцентной диагностики с 5-АЛК в хирургии интракраниальных метастазов.

Вопрос о необходимости применения интраоперационной флуоресцентной диагностики с 5-АЛК в хирургии интракраниальных метастазов остается на сегодняшний день открытым. В ряде работ был продемонстрирован положительный эффект при использовании данного метода [164-166]. Авторами было показано, что хорошая визуализация опухоли потенциально способствует

более полному ее удалению, а количество побочных реакций после введения препарата минимально. Однако чувствительность метода значительно варьирует и составляет от 33% до 100%.

Kamp et al. в своем исследовании установили, что чувствительность ФД при метастазах варьирует от 52 до 81%, а при отсутствии флуоресценции при интракраниальных метастазах частота локальной прогрессии после операции была значимо выше [164-166]. Это может быть связано с различным опытом хирургов в использовании 5-АЛК, что особенно важно при слабой степени флуоресценции. Остается до конца неясным феномен свечения ложа после удаления метастатического узла.

Целесообразность применения флуоресцентной диагностики с 5-АЛК определяется наличием и величиной флуоресцентного эффекта, поэтому исследования факторов, способных повлиять на характеристики свечения, представляет научный интерес. Анализ предоперационных и интраоперационных факторов, обуславливающих наличие/отсутствие и интенсивность видимой флуоресценции, был проведен на основании больших выборок пациентов с глиальными опухолями [202]. Было продемонстрировано наличие широкого спектра статистически значимых факторов, таких как степень злокачественности опухоли, ее структура, наличие кровотечения во время операции, прием кортикостероидов накануне операции, параметры освещения в операционной, технические характеристики операционного микроскопа и флуоресцентного модуля и др., которые следует учитывать на этапах планирования операции и использовать для правильной интерпретации полученного флуоресцентного эффекта. В наиболее значимых работах, посвященных изучению флуоресценции интракраниальных метастазов с применением 5-АЛК, не уделяется значительного внимания данному вопросу. Авторы утверждают о возможной корреляции между характеристиками свечения и гистологическими, морфологическими и биохимическими свойствами опухоли [21], однако статистический анализ влияния локализации первичного очага и гистологической структуры метастазов на наличие / отсутствие флуоресценции был проведен только в работах М. Kamp et al.

[164-166].

Известно, что объем резекции опухоли влияет на общую и безрецидивную выживаемость пациентов с метастатическим поражением головного мозга [164-166]. Можно предположить, что интраоперационная флуоресцентная диагностика с применением 5-АЛК как метод, потенциально увеличивающий полноту резекции, способна улучшить долгосрочный прогноз у пациентов с данным заболеванием. Однако, оценка общей и безрецидивной выживаемости пациентов с церебральными метастазами, у которых при резекции опухоли использовалась метаболитическая навигация с применением 5-АЛК, была проведена только в работе М. Kamp et al. [164-166].

Таким образом, на сегодняшний день в мировой литературе не накоплено достаточно данных о применении интраоперационной флуоресцентной диагностики с 5-АЛК при лечении пациентов с метастатическим поражением головного мозга (Рисунок 3, приложение Б). Для получения более полной информации и расширения доказательной базы требуются дальнейшие исследования.

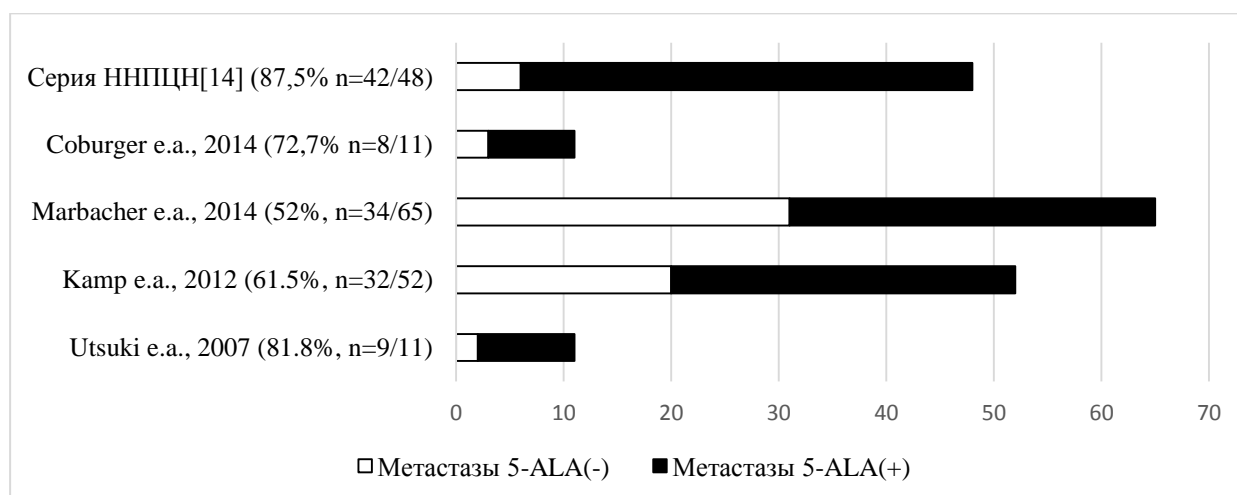


Рисунок 3 - Чувствительность метаболитической навигации в хирургии метастазов головного мозга

В хирургии метастазов, флуоресцентный эффект получен в 32/52 (62% случаев) [164-166; 202]. В работе Куржупова М.И. на примере 34 пациентов

отмечена высокая эффективность метода флуоресцентной диагностики и лазерной спектроскопии при метастатическом поражении головного мозга [21], однако автором не применялся метод множественных биопсий в ложе удаленной опухоли. Описан случай успешного использования 5-АЛК в хирургии внутричерепного метастаза гепатоцеллюлярной карциномы у пациента 63 лет [221].

Как правило, флуоресценция метастазов имеет ярко выраженный характер в виде гомогенного яркого свечения. После удаления опухолевого узла зачастую отмечается остаточная флуоресценция, свидетельствующая о феномене вытекания ПП IX за границы метастаза, что может быть причиной окрашивания перифокальной зоны [164].

По итогам анализа опубликованных работ средняя чувствительность метода интраоперационной флуоресцентной диагностики составила 68,9% (от 33% до 100%). Оценка специфичности не проводилась ввиду недостатка исходных данных, однако по предварительным оценкам оказалась невысокой и не превышала 30%. По данным Камр и соавт. чувствительность ФД при раке молочной железы составила 42%, при раке легкого – 60%, при других раках (почка, меланома, кишечник) – не более 50%, что подтверждает значительную вариабельность чувствительности метода [164-166].

Считается, что метастазы являются хорошо отграниченными от интактного мозга опухолями, что позволяет хирургу провести наиболее полное удаление очага. Однако было обнаружено [164-166], что клетки опухоли способны к инвазии в окружающие ткани, инфильтрируя окружающие ткани. Наличие опухолевой инфильтрации при гистологическом исследовании образцов, взятых на границе опухоль/интактный мозг, сочеталось с плохим прогнозом выживаемости у пациентов данной группы. Возможность интраоперационной диагностики инфильтрации теоретически позволит улучшить отдаленные результаты лечения. Результаты применения флуоресцентной диагностики с 5-АЛК в качестве метода обнаружения злокачественных клеток в перифокальной зоне неоднозначны. Большинство авторов отмечают низкую специфичность видимой флуоресценции,

объясняя данное явление накоплением ПП IX в отечном мозге в связи с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера и инфильтрацией тканей реактивными астроцитами и макрофагами. Подтверждением этому служит наличие явления ложноположительной флуоресценции у пациентов с абсцессом головного мозга, радионекрозом, очагами демиелинизации. Наличие инвазии злокачественных клеток в ткань интактного мозга и возможное применение флуоресцентной навигации с 5-АЛК требует проведения дальнейших исследований с целью уточнения условий наиболее приемлемых для использования данного метода диагностики.

Таким образом, при использовании 5-АЛК в хирургии интракраниальных метастазов остаются нерешенными как минимум 3 проблемы: 1) значительная вариабельность чувствительности ФД с 5-АЛК у данной категории пациентов, что требует уточнения этих данных; 2) феномен свечения ложа удаленных метастатических узлов, который является патогномоничным у данных пациентов; 3) наличие факторов, влияющих на флуоресцентный эффект в хирургии интракраниальных метастазов.

1.11 Применение 5-АЛК при СТБ опухолей головного мозга

Применение флуоресценции при стереотаксической биопсии может быть выполнено двумя способами. Во-первых – измерение концентрации ПП IX в ткани опухоли по ходу стереотаксической траектории до целевой мишени с помощью спектрального зонда до извлечения биоптата [237]. Во-вторых – оценка флуоресценции биоптата после его извлечения с помощью флуоресцентного режима нейрохирургического микроскопа, как делали в своей работе Widhalm и соавт [306]. В этом случае после извлечения биоптата последний помещался под флуоресцентный свет операционного микроскопа и проводилась оценка свечения ткани, при этом чувствительность в их работе составила 100% при HGG и 0% при LGG.

Применение флуоресценции при таких операциях может быть использовано как дополнительный инструмент для подтверждения нахождения

стереотаксической канюли в рассчитанной точке цели. В работе Widhalm [306] после извлечения биоптата последний помещался под флуоресцентный свет операционного микроскопа и проводилась оценка свечения ткани. Для аналогичной цели может применяться сочетание методов СТБ и флуоресцентной спектроскопии, что более удобно и не требует наличия в операционной микроскопа, оснащенного флуоресцентным модулем [237].

Анализируя данные литературы, можно сделать вывод, что в среднем 98,6% 5-АЛК позитивных проб, полученных при стереотаксической биопсии, при гистологическом анализе идентифицируются как опухоль. При анализе 79 пациентов с СТБ с использованием 5-АЛК [215] сильная флуоресценция была выявлена в 62 наблюдениях (79%), слабая в 4 (5%), и отсутствие флуоресценции – в 13 случаях (16%). Диагностическая ценность была сопоставима в серии биопсий с сильной флуоресценцией без интраоперационной гистологии с биопсиями со слабой или отсутствующей флуоресценцией, но с интраоперационной гистологией. При этом длительность хирургии и число биоптатов были значимо меньше в группе с сильной флуоресценцией. Остается до конца неясным необходимость и целесообразность применения СТБ с ФД, а также ее оптимальный способ (микроскопия с флуоресцентным модулем или стереотаксическая спектроскопия) [215].

1.12 Проблема неспецифичности окраски в зоне неопухолевых поражений

В литературе описаны случаи ложно-положительной флуоресценции в хирургии глиом. В частности, Nabavi показал, что в хирургии злокачественных глиом с продолженным ростом видимая флуоресценция совпадает с результатами биопсии (опухолевая ткань) в 96.6% случаев [226]. При исследовании 354 биоптатов, взятых в местах с положительной видимой флуоресценцией от 36 пациентов с глиомами WHO Grade III-IV авторы выявили ложно-положительные биоптаты (наличие видимого свечения при отсутствии опухолевых клеток) только в 12 случаях или в 3,4% [226].

В литературе описаны случаи видимой флуоресценции при демиелинизирующих заболеваниях и лучевых некрозах после проведения радиотерапии. Ложно-положительные результаты флуоресценции в неопухолеговой ткани могут отмечаться в результате инфильтрации реактивными астроцитами и макрофагами [294], а также проникновением препарата в зону перитуморозного отека [283]. В частности, Utsuki [294] сообщает о неспецифическом «ложном» окрашивании перифокальной зоны вокруг метастазов в 92,6% случаев за счет нарушения проницаемости ГЭБ.

При нарушении ГЭБ при других заболеваниях (демиелинизация, радионекроз) при использовании 5-АЛК в этих зонах также наблюдается видимая флуоресценция [216]. В ряде работ описаны единичные наблюдения повышенного накопления РФП ^{11}C метионина в зоне лучевого повреждения, но интенсивности фиксации РФП была ниже, чем в опухоли. Такое легкое повышение фиксации РФП может быть обусловлено нарушением ГЭБ, активностью макрофагов в области «некроза» и пролиферацией сосудов [34].

Остается нерешенной проблема неспецифического окрашивания отечной ткани мозга вокруг опухоли (особенно при метастазах), при этом биосинтез протопорфирина осуществляется в опухолевой ткани с последующим выделением его в окружающие ткани мозга, при этом нормальные ткани мозга также могут синтезировать ПП IX [209].

1.13 5-АЛК и противосудорожные препараты

Эпилептические приступы являются первым и единственным симптомом заболевания у 70% пациентов с LGG [111-112]. Это делает актуальным изучение вопроса влияния противосудорожной терапии на флуоресцентный эффект. По данным Nefti [147] фенитоин может редуцировать флуоресцентный эффект в клеточных линиях глиом (U 373 MG и U-87 MG) и клетках, полученных из глиомы мозга человека. Фенитоин ингибирует синтез протопорфирина IX в митохондриях, причем эффект носит дозозависимый характер: синтез снизился на $55 \pm 12\%$ [147]. Аналогичное исследование влияния левитерацетама не показало

снижения синтеза протопорфирина IX в клеточных линиях и культуре глиомы мозга человека [147]. По другим данным, дексаметазон как самостоятельно, так и в сочетании с фенитоином, вальпроатами влияет на синтез протопорфирина в клетках глиобластомы (U87MG), а прием левитерацетама не оказывал влияния на накопление ППХ. Авторами указано, что данный препарат является лучшим препаратом для пациентов, которым предполагается проведение резекции глиомы с флуоресцентным контролем [185]. В работе Haust [143] показано снижение активности ферментов биосинтеза гема в эритроцитах при взаимодействии с вальпроевой кислотой и карбамазепином. В доступной литературе мы не встретили данных о влиянии противосудорожных препаратов на флуоресцентный эффект у пациентов с LGG.

1.14 ФД с 5-АЛК функционально значимых зон головного мозга: интраоперационное картирование

В существующей литературе использование 5-АЛК в хирургии глиом ФЗЗ является противоречивым [240]. Так ряд авторов считает нецелесообразным применение 5-АЛК в хирургии глиом ФЗЗ. В проспективном исследовании Feigl [240] у 18 пациентов с первичными глиомами, локализованные в функционально значимых областях мозга, были оперированы с использованием 5-АЛК в сочетании с интраоперационным мониторингом. В этой серии было выполнено 25 оперативных вмешательств. Это исследование продемонстрировало значительную пользу мониторинга функциональных зон и проводящих путей при использовании 5-АЛК. GTR была достигнута в 16 (64%) из хирургических вмешательств с сохранением функциональных зон и проводящих путей [240]. При этом в 14% случаев резекция была остановлена несмотря на остающуюся в ране флуоресценцию опухоли в связи со снижением моторных вызванных потенциалов и функционально значимых корковых зон.

Следующая статья о применении 5-АЛК в хирургии глиом ФЗЗ была опубликована Della Puppa [105] на серии, включающей 31 пациента, из них в 74%

было выполнено полное удаление контактирующей части опухоли, в 24% резекция была остановлена ввиду функциональной значимости прилежащих зон мозга. При этом 64% пациентов имели неврологический дефицит к концу 1 недели послеоперационного периода, но только 3% пациентов - стойкий дефицит спустя 3 месяца [105].

В работе Picart и соавт [243] было выполнено исследование у пациентов (51 человек) с глиобластомами функционально значимых зон (ФЗЗ), из них 24 человека оперированы с 5-АЛК и 27 пациентов только в белом свете. При сравнении групп значимых отличий в ранних и поздних (3 мес) неврологических исходах после операции не выявлено. Аналогичные данные были получены в степени резекции между группами, и общей выживаемости. Однако, время до прогрессирования было значимо больше в группе с 5-АЛК, в том числе 12 месячная выживаемость без прогрессирования (60% в группе с 5-АЛК и 21% в белом свете $p = 0,006$) [243].

Проф. Pastor [240] на серии, включающей 34 пациента со злокачественными глиомами ФЗЗ с 5-АЛК, GTR была достигнута у 66.7% пациентов. У 4 пациентов резекция была остановлена несмотря на сохраняющуюся флуоресценцию из за опасности развития грубой неврологической симптоматики. Таким образом, сочетание ФД с 5-АЛК и интраоперационного нейрофизиологического мониторинга при удалении злокачественных глиом ФЗЗ является оптимальным [240]. В 2015 году была опубликована первая в мире работа о сочетанном применении 5-АЛК и хирургии с пробуждением при удалении глиобластомы левой лобной доли [94].

Schunck использовали интраоперационный нейростимулятор Raabe у 72 пациентов с глиобластомами с применением 5-АЛК [267]. Опухоли примыкали к пирамидному тракту (расстояние не более 10 мм). Авторы использовали динамическое картирование монополярным стимулятором в сочетании с ТК МВП. Минимальный моторный порог, достигнутый хирургом во время операции, распределился следующим образом: > 20 mA, $n = 8$; 11-20 mA, $n = 13$; 6-10 mA, $n = 10$; 4-5 mA, $n = 13$; 1-3 mA, $n = 23$. Ухудшение моторных функций зафиксировано у 30% пациентов в 1 сутки и у 10% к моменту выписки. Через 3 месяца

перистирующий моторный дефицит наблюдался у 4% пациентов (из них в 2 случаях причиной было повреждение сосудов и в 1 – механическая травматизация тракта). Полное удаление контрастируемой части опухоли достигнуто у 73% пациентов [267].

В мировой литературе описано всего 2 работы о сочетанном применении 5-АЛК и краниотомии в сознании при глиомах ФЗЗ: первая работа в 2015г доктором Corns и соавт (1 наблюдение) [94] и в последующем через 2 года доктором Jane Skjøth-Rasmussen (серия, включающая 19 злокачественных глиом). Остается до конца неясным необходимость и возможность сочетанного применения этих 2 принципиально противоположных по идеологии методов метаболической и функциональной навигации (Рисунок 4).

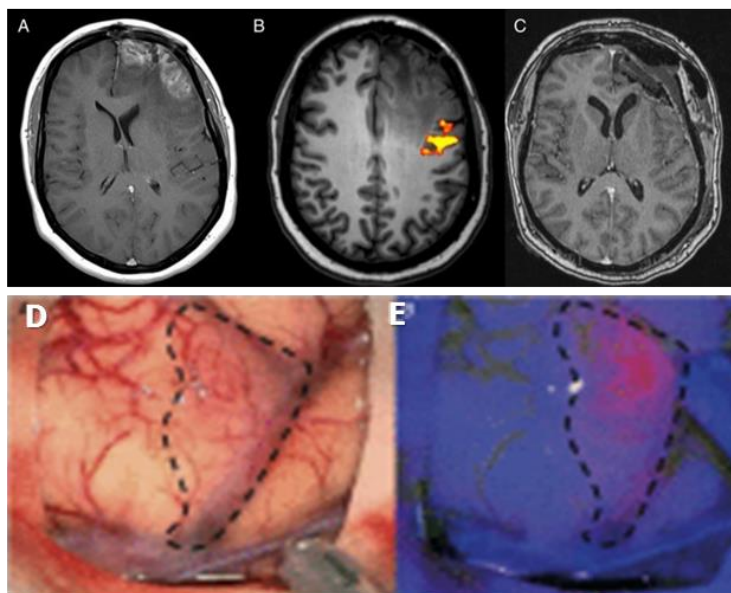


Рисунок 4 - Клинический пример сочетанного применения краниотомии в сознании и метаболической навигации у пациента с глиобластомой полюса левой лобной доли (из работы Corns et al., 2015) [94]. А-С: фМРТ с картированием корковой зоны речи, D-E – интраоперационные фотографии в белом и флуоресцентном режимах микроскопа.

Молекулярные механизмы флуоресценции

Основные механизмы накопления 5-АЛК и биосинтеза ПП IX определяются активностью вышеперечисленных ферментов пути биосинтеза гема [289]. Осаеся

до конца неясной причина отсутствия флуоресцентного эффекта в некоторых злокачественных глиомах и в большинстве глиом низкой степени злокачественности. Для более подробного анализа необходимо исследование экспрессии генов и белков, кодирующих синтез ферментов каскада биосинтеза гема.

Степень разработанности темы исследования

В современной нейроонкологии имеется отчетливая тенденция к применению различных методов нейровизуализации как на этапе дооперационного планирования (в хирургии опухолей ФЗЗ), так и во время операции (флуоресценция, нейронавигация, МРТ, КТ, УЗИ, нейрофизиологический контроль). Данная работа посвящена всестороннему анализу применения метаболической навигации с 5-АЛК в нейроонкологии.

Сложным является вопрос о флуоресценции менингиом. С одной стороны, это хорошо отграниченная от мозга опухоль, с другой стороны именно для данных опухолей характерны гиперостозы, поражение твердой мозговой оболочки, где флуоресценция может быть полезна. При интракраниальных менингиомах в 20-68% случаях наблюдается поражение опухолевым процессом кости, но не в каждом гиперостозе имеются опухолевые клетки. При конвекситальных опухолях гистологически подтверждено присутствие опухолевых клеток в зоне гиперостоза только в 33,3% случаев, при остальных менингиомах – в 20% [138].

Остается нерешённым вопрос о флуоресценции ложа удаленных метастазов, о факторах, влияющих на их свечение. Остается неясной значительная вариабельность чувствительности ФД при хирургии этих опухолей. Однако, главная загадка кроется в свечении ложа удаленного метастаза. Остается абсолютно непонятным причина данного явления и тактика нейрохирурга относительно удаления перифокальной светящейся зоны. В литературе недостаточно данных относительно наличия или отсутствия опухолевых клеток в данной зоне.

На протяжении всей истории применения 5-АЛК в нейрохирургии

оставались вопросы о необходимости и целесообразности использования метода в хирургии доброкачественных глиом. В литературе описана высокая вариабельность чувствительности флуоресценции при данной патологии (от 0 до 40%). Ряд авторов считает, что доброкачественные глиомы в принципе не могут флуоресцировать. Отсутствует описание типов свечения (фокусное или диффузное). Остаются до конца неясными факторы, влияющие на свечение этих опухолей, в частности прием противосудорожных препаратов, связь флуоресценции и гистологии светящихся зон. В литературе имеется спор: в частности проф. Widhalm et al. считает все светящиеся фокусы неконтрастирующихся глиом зонами Grade III и предлагает использовать их для прицельной биопсии [307]. По другим данным, светящиеся фокусы доброкачественных глиом могут являться зонами с более высокой плотностью клеток и более высокой пролиферативной активностью, но все же относиться к Grade II. Безусловно, требуются новые исследования для уточнения свечения этой категории опухолей.

Не ясна роль ФД при СТБ опухолей головного мозга. Применение флуоресценции в ходе данных вмешательств является оправданной с целью уменьшения числа неинформативных биопсий. Одни авторы предлагают проводить изучение статуса флуоресценции после извлечения биоптата с использованием флуоресцентного режима микроскопа [306]. Другие авторы пытаются внедрить в канюлю для стереотаксической биопсии спектральный зонд для измерения уровня свечения до извлечения биоптата [237].

Остается дискуссионным вопрос использования 5-АЛК в хирургии опухолей ФЗЗ. Одни авторы утверждают, что методы нейрофизиологического мониторинга и метаболической навигации противоречат друг другу, в то время как другие показывают, что они комплементарны. С этой целью необходимо уточнить целесообразность сочетанного применения флуоресценции при краниотомии в сознании [94].

5-АЛК является дорогостоящим препаратом. В связи с этим актуальным является поиск различных предикторов эффективности применения 5-АЛК до

операции таких как объем контрастирующейся части опухоли, ASL перфузия, индекс накопления метионина по данным ПЭТ и другие факторы.

Применение методов количественной спектроскопии позволяет выявлять небольшие концентрации протопорфиринов в хирургии глиом и других опухолей [21]. Однако остается нерешенным вопрос о способах спектрального анализа слабо и нефлуоресцирующих опухолей, прежде всего глиом низкой степени злокачественности.

Остается до конца неясной причина отсутствия флуоресценции у 10-15% пациентов с глиобластомами и 30-35% с анапластическими глиомами. С этой целью изучение молекулярных механизмов флуоресценции, в частности активности белков ферментов биосинтеза гема в культурах глиобластом, позволяет уточнить причины отсутствия свечения в части этих опухолей.

Исходы хирургического лечения глиом постоянно обсуждаются в литературе и делятся на 1) волюметрические исходы по данным послеоперационной МРТ, 2) неврологические исходы, 3) общую и безрецидивную выживаемость. Несмотря на доказанную более высокую частоту достижения тотальных резекций контрастируемой части злокачественных глиом в более ранних работах имеются противоречивые данные о влиянии флуоресценции на выживаемость пациентов. Так в работе Stummer W. et al [282-284] четко показано влияние 5-АЛК на 6 месячную безрецидивную выживаемость в сторону ее увеличения. В тоже время другие авторов эти данные не подтверждают [261]. При этом, хотя 5-АЛК и улучшала радикальность операций, это не оказывало влияния на общую выживаемость или выживаемость без прогрессирования [261].

По литературным данным (метаанализ Jiang и соавт. 2019) с 2010 по 2018 г произошло удвоение медианы общей выживаемости при глиобластомах [160]. В тоже время, несмотря на обилие методов интраоперационной нейровизуализации (КТ, МРТ, навигационные системы, УЗИ), методов картирования мозга, значимого и доказанного прогресса в увеличении сроков общей и безрецидивной выживаемости при злокачественных глиомах в настоящее время не наблюдается [153]. В связи с этим перед автором встал вопрос проведения анализа собственных

данных общей выживаемости пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с применением 5-АЛК, за последние 10 лет.

Учитывая выше сказанное, проведение комплексного исследования по применению метаболической навигации в хирургическом лечении опухолей головного мозга различной гистологической природы с целью решения данной проблемы в настоящее время является актуальным.

Глава 2 Материал и методы исследования

2.1 Характеристики основных исследуемых групп пациентов

За период с 2013 по 2020 гг в с использованием метаболической навигации были оперированы 403 пациентов. Микрохирургические резекции выполнены у 384 из них (в том числе у 220 - с глиальными опухолями, у 101 - с интракраниальными менингиомами, у 63 - с метастатическим поражением головного мозга), стереотаксическую биопсию с 5-АЛК ассистенцией - у 19.

Среди 63 пациентов с метастазами, солитарное поражение отмечалось у 39, многоочаговое - у 16. Поэтому в этой группе рассмотрено 72 наблюдения метастатических узлов.

Работа представляет собой одноцентровое когортное исследование.

Критерии включения:

- 1) возраст 16-75 лет;
- 2) опухоли головного мозга супратенториальной локализации (глиомы различной степени злокачественности, менингиомы и метастазы)
- 3) индекс Карновского не менее 70;
- 4) отсутствие у пациентов серьезных заболеваний печени и почек.

Критерии исключения:

- 1) порфирия;
- 2) значимое повышение уровней креатинина и мочевины;
- 3) повышение ферментов печени (АЛТ, АСТ, ГГТП) в 2 и более раз выше нормы;
- 4) наличие в анамнезе заболеваний печени (гепатиты, циррозы);
- 5) нефрэктомия в анамнезе;
- 6) беременность и кормление грудью.

Распределение пациентов исследуемой группы по нозологическим формам представлено в Таблице 6.

Таблица 6 - Распределение пациентов по гистологии в исследуемой группе с исследованием флуоресценции

Гистология	Количество пациентов	
Астроцитома пилоидная Grade I	3	LGG (n = 56)
Астроцитома диффузная Grade II	24	
Астроцитома гемистоцитарная Grade II	3	
Ганглиоастроцитома Grade II	1	
Инфантильная десмопластическая ганглиоглиома	1	
Олигоастроцитома Grade II <i>(пациенты включены с 2013 по 2016гг)</i>	16	
Олигодендроглиома Grade II	6	
Плеоморфная ксантоастроцитома Grade II	2	
Анапластическая астроцитома Grade III	29	HGG (n=164)
Анапластическая олигоастроцитома* Grade III <i>(пациенты включены с 2013 по 2016гг)</i>	8	
Анапластическая олигодендроглиома Grade III	6	
Глиобластома Grade IV	115	
Глиосаркома Grade IV	6	
Менингиомы:	101	
Grade I	78	101
Grade II	21	
Grade III	2	
Интракраниальные метастазы:	63	63
Рака лёгкого	24	
Рака молочной железы	19	
Прочие метастазы	20	
Солидарный узел	39	72
Многоочаговое поражение	16	
ИТОГО: 384 – микрохирургия; 19 – СТБ	403	

Клиническая картина у 220 пациентов с глиомами головного мозга включала в себя; пароксизмальную симптоматику (53%); речевые нарушения различной степени выраженности (33%); пирамидный дефицит (15%); поражение черепных нервов, чаще всего 7 и 12 (10%); зрительные нарушения в виде выпадения полей зрения по гомонимному типу вследствие воздействия на зрительный путь в полушариях головного мозга (17,5%).

У пациентов с выраженным объемом опухоли и грубым дислокационным синдромом (более 5 мм) отмечались признаки внутричерепной гипертензии в виде застойных дисков зрительных нервов (12%).

Средний возраст пациентов составил 46 лет, минимальный возраст - 18 лет, максимальный – 78 лет. Женщин – 102, мужчин – 118.

Локализация глиом головного мозга: лобная доля – 88 (40%), височная – 56 (25,5%), теменная – 26 (12,7%), затылочная – 11 (5%), мультилобарная – 37 (16,8%). Левополушарных глиом было 106, правополушарных - 114. У 40 пациентов опухоли были расположены в левой лобной и височной долях вблизи речевых зон коры и длинных ассоциативных трактов, при этом речевая функция до операции позволяла выполнить краниотомию в сознании.

Первично оперировано 187 пациентов (85%), повторно 48 в связи с рецидивом заболевания (15%).

Ниже приводятся дополнительные данные о пациентах с интракраниальными менингиомами (101 наблюдение) и метастазами (63 наблюдения).

Клинические особенности интракраниальных менингиом, включенных в исследование

В анализ включен 101 пациент с менингиомами, прооперированные в Центре нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко с 2011 по 2017 гг. Они вошли в анализ последовательно, без исключений, при наличии на предоперационных МРТ подозрения на интракраниальную менингиому. Исходные характеристики исследуемой когорты пациентов представлены ниже (Таблица 7).

Таблица 7 - Данные об исследуемых пациентах серии с интракраниальными менингиомами (n=101) .

Характеристика	Количество наблюдений (%)
Пол	
М	28 (27,7)
Ж	73 (72,3)
Возраст, годы	
Медиана	54
Диапазон	25—77
Количество наблюдений	101
Впервые выявленные	92 (91)
Продолженный рост	9 (9)
Степень резекции менингиомы по Simpson	
I	26 (25,7)
II	67 (66,3)
III—IV	8 (7,9)
Гистология (WHO Grade)	
Grade I	78 (77)
Grade II	21 (20,8)
Grade III	2 (0,02)
Локализация опухоли	
Конвекситальные + парасагиттальные	77 (76,2)
Основание черепа	22 (21,8)
Другое	2 (2)
Количество узлов	
Одиночные узлы	90
Два узла и более	11

В исследуемой выборке пациентов преобладали впервые выявленные менингиомы конвекситальной и парасагиттальной локализации, в большинстве случаев — опухоли WHO Grade I. Только 11 (10,9%) пациентов имели множественные узлы опухоли. Из анализируемой группы у 13 (12,9%) пациентов имелись заболевания ЖКТ и у 6 (5,9%) — сахарный диабет.

Клиническая картина у пациентов с интракраниальными менингиомами включала общемозговые симптомы (60%), двигательные нарушения различной степени выраженности (32%), речевые нарушения (12%), гемианопсии (4%), нарушение статики, походки (7%), симптомы повышения внутричерепного давления в виде застойных дисков зрительных нервов (6%). Пароксизмальная симптоматика наблюдалась реже, чем при глиальных опухолях и была отмечена у 11% пациентов.

Особенности группы пациентов с интракраниальными метастазами

Метаболическая навигация использована нами у 63 пациентов с

интракраниальными метастазами. Ниже приводятся данные о пациентах, включенных в данное исследование (Приложение В).

Клиническая картина у пациентов с интракраниальными метастазами включала в себя общемозговые симптомы (40% пациентов), признаки внутричерепной гипертензии в связи с выраженным перифокальным отеком и воздействием на диски зрительных нервов (25%), очаговые симптомы – прежде всего моторный дефицит при локализации опухоли вблизи двигательных зон мозга (31,7%), зрительные нарушения в виде гемианопсии (12,7%), гемигипотезия (15,9%), пароксизмальную симптоматику (9,5%). Преобладали пациенты с метастазами рака легких 24 (38,1%), рака молочной железы – 19 (30,2%) и рака почки – 7 (11,1%). Первично оперированы 55 (87,3% пациентов), повторные операции были у 8 (12,7%). Солитарные узлы были у 46 пациентов (73%). По локализации на первом месте отмечалось поражение лобной доли – 25 пациента (35%), теменная – 19 (26,4%), височной доли – 12 (16,7%), затылочная доля – 8 (11%).

2.2 Методика микрохирургических оперативных вмешательств с применением флуоресценции при опухолях головного мозга

После получения информированного согласия и данных об отсутствии значимой патологии со стороны печени и почек, пациенты получали раствор гидрохлорида 5-аминоливулиновой кислоты (Аласенс®, ГНЦ “НИОПИК”, Российская Федерация) в дозе 20 мг/кг. 5-АЛК назначалась за 2 часа до оперативного вмешательства (90% пациентов), за 3-4 часа (9% пациентов), реже препарат вводился перед подачей пациента в операционную (1% наблюдений).

После общей анестезии выполнялось позиционирование пациента на операционном столе, жесткая фиксация головы скобой Mayfield, подготовка операционного поля. У ряда пациентов выполнялась нейронавигация с использованием систем Sonowand, Fiagon.

Все операции по удалению опухолей головного мозга выполнялись с использованием операционного микроскопа и микрохирургической техники.

Доступ осуществлялся в проекции расположения опухоли с применением принятой в ИНХ техники стандартных кожных разрезов и доступов. Чаще всего использовались дугообразные разрезы для доступа к опухолям, расположенным в лобно-височной области. Необходимо отметить, что в последнее время благодаря использованию нейронавигации чаще используются линейные разрезы, что является менее травматичным, позволяет выполнить трепанацию меньшего размера. При хирургии с пробуждением всегда выполняется широкая трепанация с целью предотвращения ущемления мозга в узком костном окне при пробуждении пациента и возможном при этом повышении внутричерепного давления. Во всех случаях выполнена костно-пластическая трепанация свободным костным лоскутом с использованием высокоскоростного пневмотрепана.

После выполнения трепанации дальнейшие манипуляции проводились с использованием микроскопа, в большинстве случаев использовался микроскоп Carl Zeiss OPMI Pentero с флуоресцентным модулем.

Перед вскрытием ТМО проводилась интраоперационная ультразвукография с использованием аппарата «Sonowand» для уточнения расположения опухоли относительно трепанационного окна, ее глубины и траектории подхода к ней.

При выраженном напряжении ТМО осуществлялся комплекс мер по релаксации мозга (гипервентиляция, инфузия гиперосмолярных растворов, вскрытие цистерны Сильвиевой щели, вентрикулопункция). После достижения релаксации мозга и уменьшения его напряжения осуществлялась дуротомия. Сонография повторялась после вскрытия ТМО и в процессе удаления по мере необходимости. В случае близкого расположения магистральных сосудов (прежде всего, ветвей средней мозговой артерии, перикаллезных артерий), а также верификации верхнего сагиттального синуса использовалась ультразвукография в ангиорежиме. В хирургии глубоко расположенных глиом для уточнения оптимального подхода к опухоли использовались нейронавигационные системы. Затем осуществлялось электрофизиологическое обследование коры (mapping) с предварительным подбором стимула для выбора зоны, безопасной в функциональном отношении для кортикотомии и энцефалотомии.

После кортикотомии и энцефалотомии осуществлялся подход к опухоли. При визуализации в белом свете опухолевой ткани хирург переключал микроскоп в режим флуоресценции BL 400. Далее оценивалось наличие и интенсивность видимой флуоресценции в синем свете, проводилась визуальная оценка распространения опухоли и определение типа ее флуоресценции. В ходе удаления опухоли с использованием микрохирургической техники хирург периодически переключал режимы микроскопа в белом свете и в режиме BL 400 (Рисунки 5, 6).

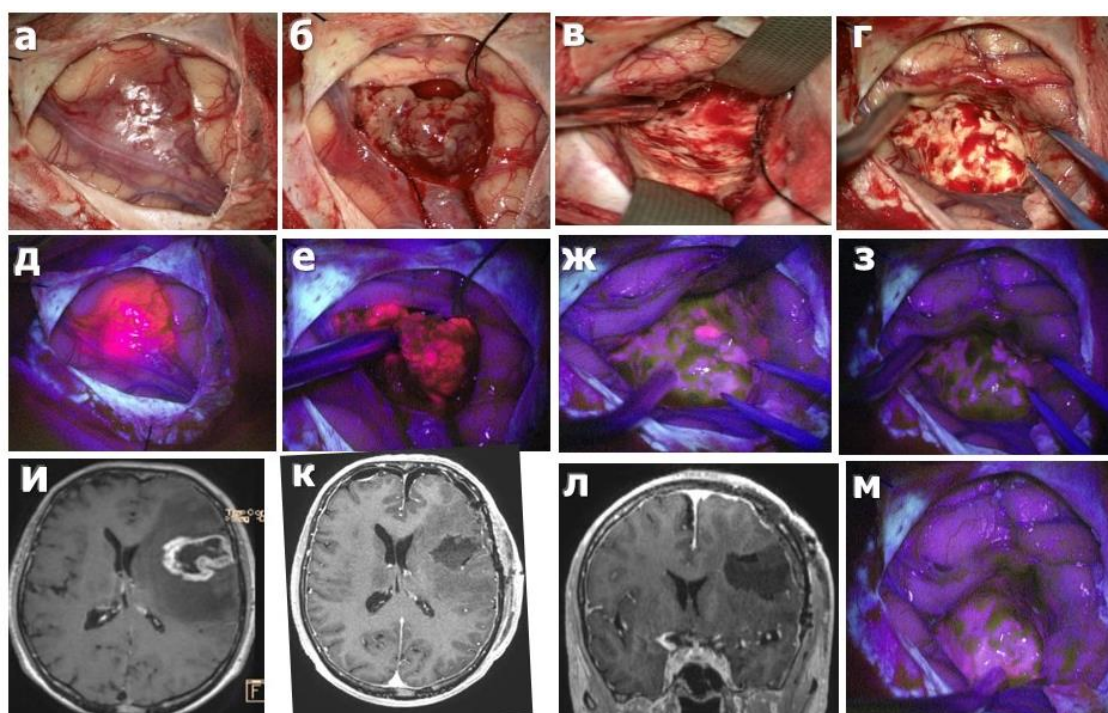


Рисунок 5 - Постепенное снижение интенсивности флуоресценции по мере удаления глиобластомы левой лобной доли при периодическом переключении режимов белого и флуоресцентного цветов: а) вид опухоли, выходящей на кору мозга до удаления; д) соответствующий вид во флуоресцентном режиме, опухоль ярко светится; б) начат процесс удаления опухоли, вид в белом свете, е) яркое свечение опухоли в флуоресцентном режиме, в) конец основного этапа резекции, в белом свете остатков опухоли нет, ж) остается остаточное свечение в ложе, удаление опухоли продолжено, г) финальный вид раны в белом свете перед гемостазом, з) – соответствующий финальному этапу вид в белом свете – остаточного свечения нет, и) МРТ до операции с контрастом в T1 режиме, аксиальный срез, к) МРТ после операции с контрастом, в T1 режиме, аксиальный срез, л) МРТ после операции с контрастом, в T1 режиме, сагиттальный срез, м) повторная контрольная флуороскопия перед укладыванием гемостатической марли, свечения нет.

На финальном этапе всегда перед гемостазом проводилась оценка остаточного свечения, при его наличии решение о доудалении опухоли принималось в зависимости от расположения функциональных зон.

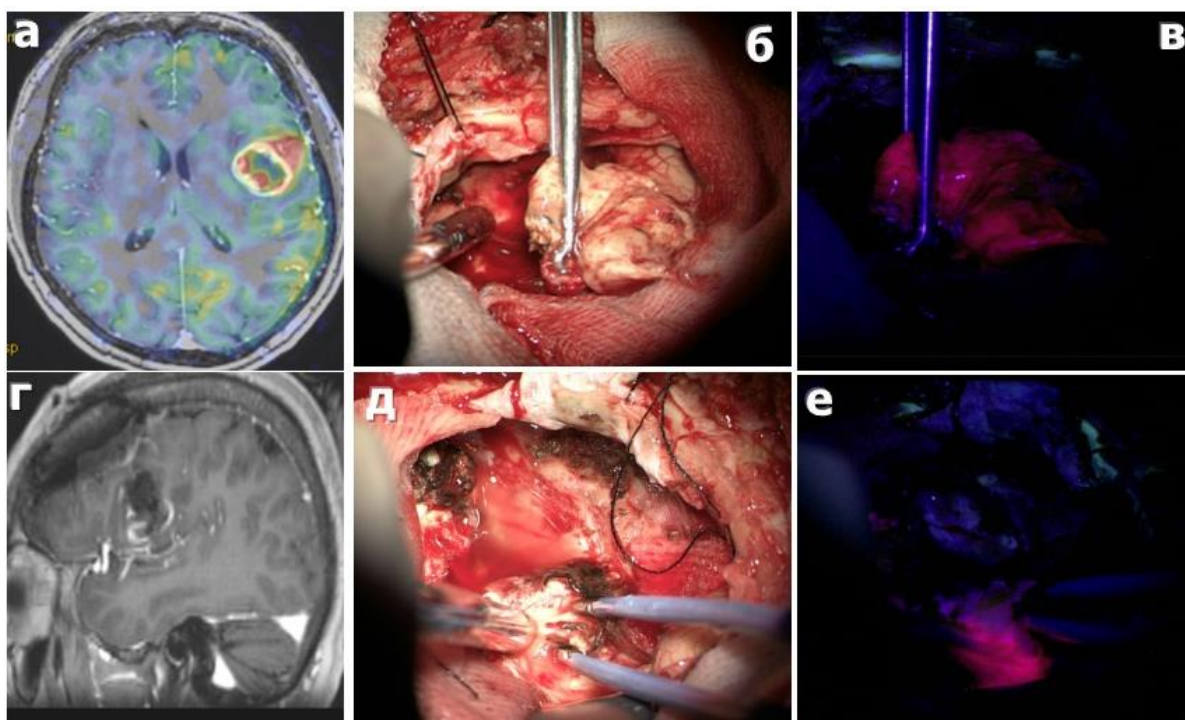


Рисунок 6 - Клиническое наблюдение резекции глиобластомы левой лобной доли: А) МРТ до операции в T1 режиме, аксиальный срез, с контрастным усилением, б) вид удаляемой опухоли в белом свете, в) яркая флуоресценция основного узла в опухоли во флуоресцентном режиме, г) МРТ после операции с контрастным усилением, сагиттальный срез, д) вид в белом свете после резекции основной части опухоли, в белом свете остатков опухоли не выявлено, е) остатки опухоли при контрольной флуороскопии, резекция продолжена.

Обязательно перед переключением микроскопа во флуоресцентный режим в ране не должно быть свертков крови. При их наличии выполнялся этапный гемостаз и свертки отмывались струей физиологического раствора (Рисунок 7).

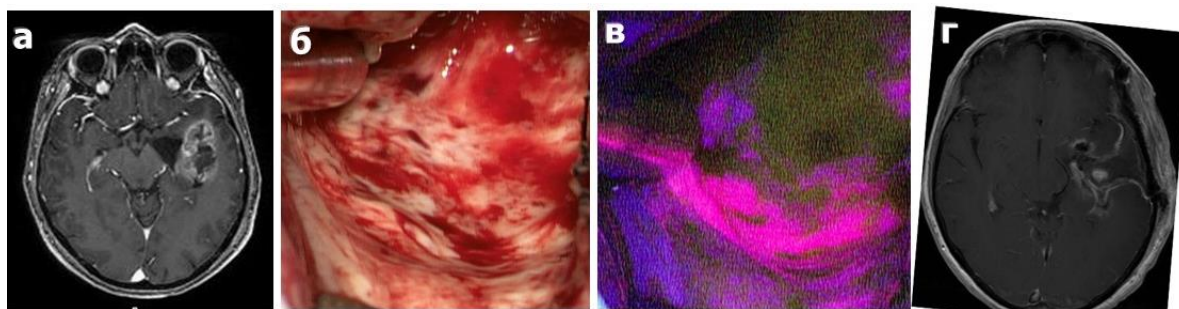


Рисунок 7 - Пример остаточной флуоресценции при удалении анапластической астроцитомы левой височной доли: а) МРТ в T1 режиме с контрастом, аксиальный срез до операции, б) вид полости резекции после удаления основного узла в белом свете, остатков опухоли не выявлено, в) вид полости резекции после удаления основного узла - интенсивное свечение в режиме флуоресценции, г) МРТ после операции с контрастом, в T1 режиме, аксиальный срез.

Работа вблизи функционально значимых зон осуществлялась с учетом данных нейрофизиологического мониторинга. При появлении эпилептиформных разрядов, по данным электрокортикографии, в связи со стимуляцией с целью профилактики развития судорог использовалась аппликация ледяного раствора Рингера на поверхность коры головного мозга, что приводило к быстрой редукции эпилептиформности.

Противопоказания к приему 5 АЛК «Аласенса» – выраженное (более чем в 3-4 раза) повышение АЛТ, АСТ, порфирия, беременность, кормление грудью.

2.3 Качественная оценка флуоресцентного эффекта

Все операции проводили с использованием микроскопа «Carl Zeiss Pentero» с флуоресцентным модулем (режим BLUE 400). Во время оперативного вмешательства проводилось периодическое переключение из режима работы в белом свете во флуоресцентный режим. Операционная при этом затемнялась (отключалось внешнее освещение). Проводилась визуальная субъективная оценка свечения опухоли с использованием 4 балльной шкалы – 0 – отсутствие свечения, 1 – слабое свечение, 2 – умеренное свечение, 3 – яркое свечение. Во время операции

хирургом отмечался и характер свечения: фокусный (более характерный для диффузных глиом и глиобластом в зоне инфильтрации) или гомогенный (более характерный для флуоресцирующих менингиом и метастазов)

2.4 Количественная оценка флуоресцентного эффекта

Подробное описание количественной оценки флуоресцентного эффекта для глиом выполнено нами ранее [17]. В данной работе мы использовали спектроскопию у пациентов с интракраниальными менингиомами и метастазами. Для количественной оценки флуоресценции использовался лазерный спектрометр ЛЭСА (Биоспек). Рассчитывалось соотношение уровня сигнала между опухолевой тканью/ложом опухоли и неизменным головным мозгом. Интенсивность свечения в микроскопе оценивалась визуально как слабая, умеренная, выраженная. Подробное измерение количественного накопления протопорфирина в различных участках глиальных опухолей выполнено нами ранее [17]. В текущем исследовании для количественной оценки флуоресцентного эффекта у 24 пациентов с интракраниальными менингиомами использована лазерная биоспектроскопия на аппарате ЛЭСА-01 Биоспек и у 22 пациентов с интракраниальными метастазами (Рисунок 8).

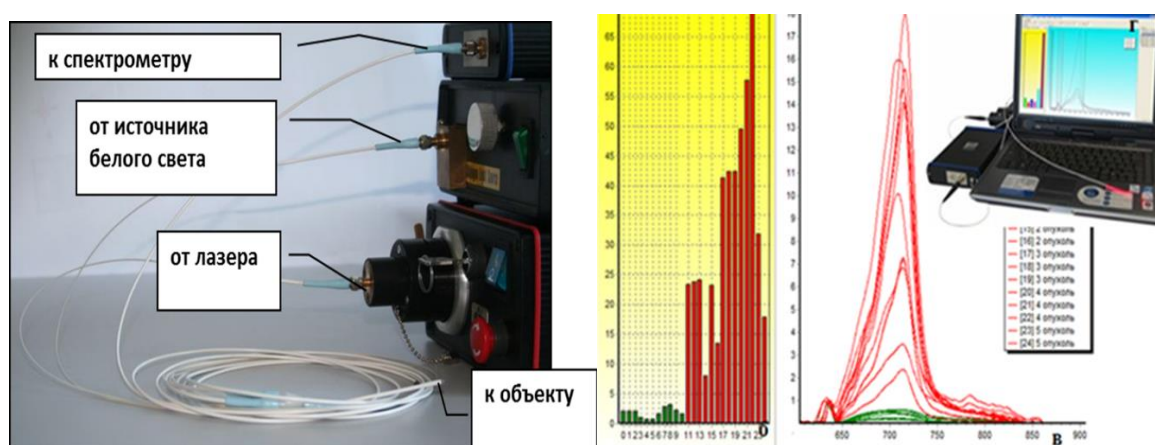


Рисунок 8 - Оборудование для лазерной спектроскопии: слева – источник света (лазер), волокна для спектроскопии, преобразователь, справа – кривые накопления протопорфиринов

При проведении измерений дистальный конец оптоволоконного жгута приводили в мягкий контакт с исследуемой биологической тканью так, чтобы между торцом оптоволокна и тканью не было воздушного зазора, но при этом жгут не оказывал давления на ткань, поскольку это приводит к изменению ее физиологических и оптических свойств. В результате измерения на вход спектрометра поступает диффузно отраженное тканью широкополосное излучение в диапазоне длин волн 500—600 нм, диффузно отраженное тканью и ослабленное на три порядка режекторным фильтром, расположенным на входе спектрометра, лазерное излучение, а также индуцированное лазерным флуоресцентное излучение. Регистрируемые спектральные зависимости подвергались математической обработке в реальном масштабе времени, в результате которой хирургу предоставлялась информация о концентрации и накоплении 5-АЛК-индуцированного ПП IX в исследуемой области (Рисунок 9).

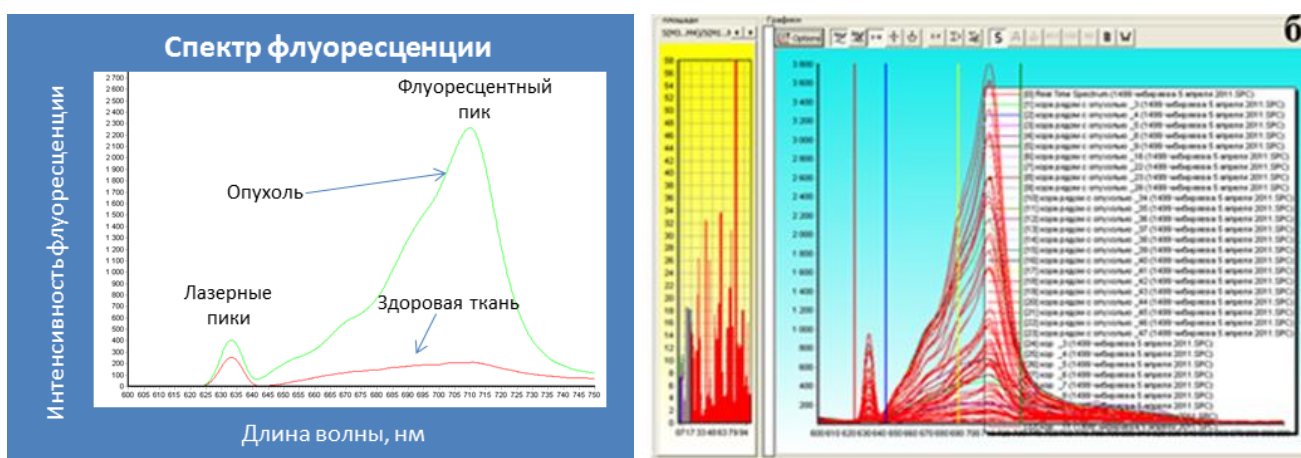


Рисунок 9 - Общий принцип спектроскопии опухолей головного мозга. Слева – пик протопорфирина в опухоли и его отсутствие в здоровой ткани, справа – кривые накопления протопорфирина в различных участках опухоли по мере ее удаления кривые снижаются до фонового уровня.

Ниже представлена таблица соответствия между флуоресценцией в окулярах микроскопа и показателями спектроскопии (Таблица 8).

Таблица 8 - Соответствие объективной оценки свечения опухоли показателям спектроскопии в хирургии интракраниальных менингиом и метастазов.

Показатели свечения опухоли в окулярах микроскопа	Интенсивность в окулярах микроскопа	Данные спектроскопии, (у.е.)	
		среднее	диапазон
0	Нет свечения	7,5	2-9
1	Слабое свечение	9	8-11
2	Умеренно свечение	18,5	15-22
3	Яркое свечение	35	22-42

При наблюдении яркого свечения средний индекс флуоресценции составил 35 у.е. (22-42 у.е.), умеренного – 18,5 у.е. (15-22 у.е.), слабого – 9 у.е. (8-11 у.е.). При отсутствии видимого свечения средний индекс флуоресценции составил 7,5 у.е. (6-9 у.е.).

Рамановская спектроскопия

Нами использован спектрометр комбинационного рассеяния света Raman-HR-TEC-785 (StellarNet, США), источник узкополосного лазерного излучения с длиной волны 785 нм (ширина на половине амплитуды лазерного пика 0,2 нм, мощность до 500 мВт) Ramulaser™ 785 (StellarNet, США) а также волоконно-оптического конфокального зонда для доставки лазерного излучения и сигнала. Методика использована у 8 пациентов с глиобластомами.

2.5 Стереотаксические операции на головном мозге с флуоресцентным контролем

После получения информированного согласия и данных об отсутствии значимой патологии со стороны печени и почек, пациенты получали раствор гидрохлорида 5-аминоливулиновой кислоты (Аласенс®, ГНЦ “НИОПИК”, Российская Федерация) в дозе 20 мг/кг. 5-АЛК назначалась за 2 часа до оперативного вмешательства. СТБ выполнялась на аппарате CRW у 17 человек и у 2 пациентов на навигационной системе ROSA. СТБ с 5-АЛК выполнена у 19

пациентов. Расчетные снимки выполнялись с помощью СКТ с контрастом. После извлечения биоптатов из точки цели последние помещались под микроскоп «Carl Zeiss Pentero» с флуоресцентным модулем (режим BLUE 400) у 18 человек, а 1 больного выполнена стереотаксическая спектроскопия.

2.6 ASL перфузия

Метод ASL перфузии был выполнен у 126 пациентов с супратенториальными глиомами, из которых в дальнейшее исследование было включено 66 пациентов в возрасте от 12 до 75 лет (медиана – 44 года, интерквартильный размах – 30-54 года) с впервые выявленными глиальными опухолями супратенториальной локализации, которые обследовались в НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко с 2012 по 2016 год. Этим пациентам в последующем была выполнена операция по удалению опухоли или проведена стереотаксическая биопсия с последующим установлением гистологического диагноза с использованием интраоперационной метаболической навигации.

Сканирование проводили на 3,0 Тл МР-томографе General Electric Signa HD (GE Healthcare) с 8 канальной головной катушкой. В исследовании использовались следующие импульсные последовательности: T1 FSPGR BRAVO с изотропным вокселем 1x1x1 мм и нулевым зазором до и после внутривенного введения контрастного вещества (или аксиальная T1 с толщиной среза 5 мм и зазором между срезами 1 мм до контрастирования и T1 в 3-х проекциях после контрастирования), аксиальная T2 с толщиной среза 5 мм и зазором между срезами 1 мм, аксиальная T2-FLAIR с толщиной среза 5 мм и зазором между срезами 1 мм, DWI ASSET с толщиной среза 5 мм и зазором между срезами 1 мм, а также режим 3D pCASL.

Карты мозгового кровотока были получены при обработке данных последовательности 3D pCASL (псевдонепрерывное маркирование артериальных спинов), которая проводилась со следующими параметрами: 3D FSE, 8 заходное спиральное сканирование с захватом всего объема головного мозга и последующим реформированием с толщиной срезов 4 мм; FOV = 240x240 мм; матрица 128x128, ZIP 512; TR – 4717 мс; TE – 9,8 мс; NEX=3; постмаркирующая задержка (PLD) –

1525 мс; pixel bandwidth – 976.6 Гц/пиксель. Длительность сканирования – 4 мин 30 сек.

Постобработка полученных данных выполнялась при помощи пакета программ ReadyView (GE Healthcare). Для измерения кровотока в опухоли обозначалась область интереса (ROI – region of interest) площадью $20 \text{ мм}^2 \pm 10 \text{ мм}^2$ в зоне с наибольшим значением CBF (определялась по цветовым картам кровотока). В обозначенной области определяли среднее значение опухолевого кровотока (tumor blood flow - TBF). Для исключения индивидуальных различий кровотока у разных пациентов проводили нормирование показателя TBF (nTBF) к кровотоку в интактном белом веществе семиовального центра контралатерального полушария. Для этого в семиовальном центре (в белом веществе) располагали ROI такой же площадью ($20 \text{ мм}^2 \pm 10 \text{ мм}^2$), как и ROI в опухоли. Для получения нормализованного значения делили полученные данные TBF на кровотоки в семиовальном центре; $nTBF = \text{max TBF} / \text{CBF}$ интактного белого вещества семиовального центра контралатерального полушария. Во всех случаях карты кровотока совмещались с анатомическими изображениями – T2, T2-FLAIR, T1 после внутривенного введения контрастного вещества. Во всех случаях применялась программа коррегистрации – NeuroRegistration (GE Healthcare).

Перфузионные МРТ (бесконтрастная ASL-перфузия) выполнены во время МРТ – исследования для картирования количественных показателей кровотока в опухоли, перифокальной зоне и в интактном полушарии. Полученные параметры (локальный объемный мозговой кровоток, rCBF) в опухоли и перифокальной зоны сопоставлены с аналогичными параметрами интактного полушария. Спиновое маркирование артериальной крови (ASL-перфузия) – это метод, позволяющий оценивать перфузию тканей без введения контрастного вещества путем магнитного мечения протонов в крови. МР-сигнал при ASL пропорционален объемному мозговому кровотоку (CBF), метод позволяет получать количественную оценку регионарного объемного кровотока [369].

2.7 ПЭТ головного мозга с метионином до операции

Данное исследование выполнено у 20 пациентов с глиомами головного мозга

различной степени злокачественности до операции, с подсчетом индекса накопления метионина.

2.8 Метаболическая навигация в хирургии опухолей функционально значимых зон мозга

Предоперационное планирование

У 18 пациентов с локализацией опухоли вблизи корковых зон речи и двигательных зон выполнена функциональная МРТ с картированием корковых двигательных зон, а также центров Брока и Вернике (Рисунок 10).

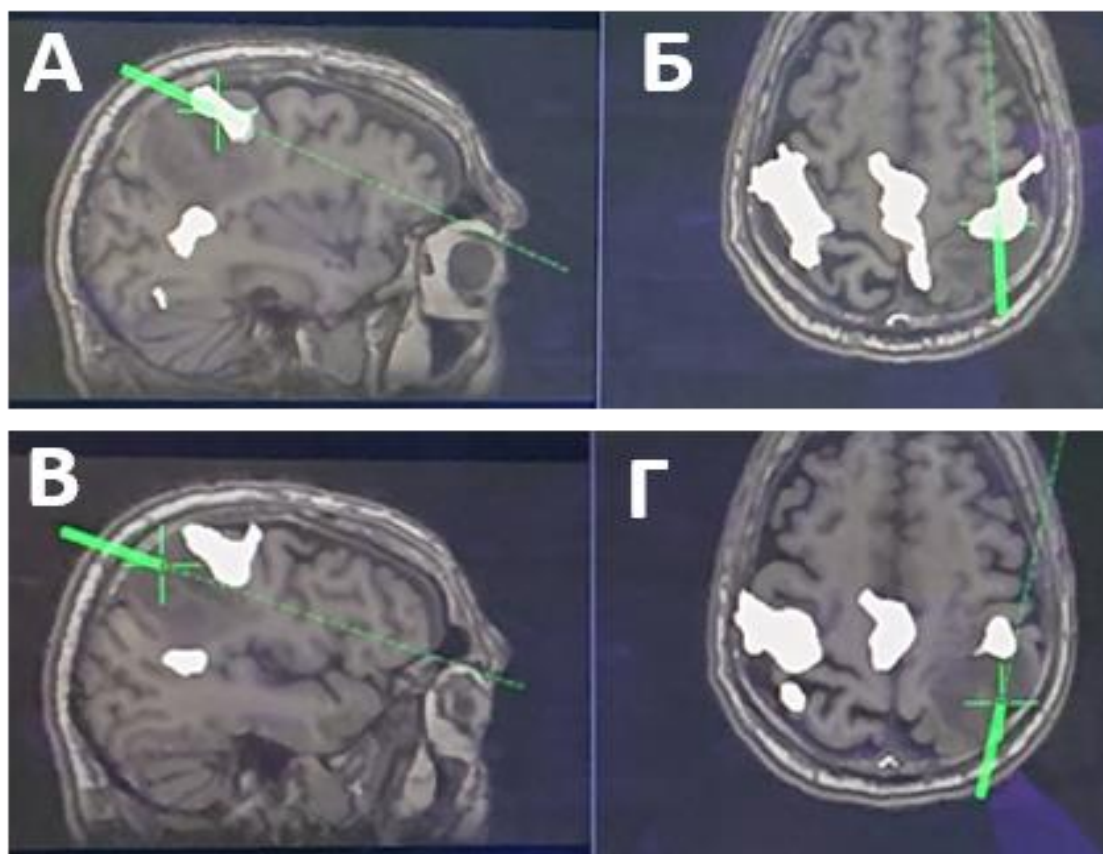


Рисунок 10 - Сравнение данных до и интраоперационного картирования моторных корковых зон руки - А: сагиттальный срез, фМРТ с картированием двигательной зоны кисти; данные совпадают; Б – коронарный срез, фМРТ с картированием двигательной зоны кисти; данные совпадают; В – сагиттальный срез, фМРТ с картированием двигательной зоны кисти; данные не совпадают; Г – аксиальный срез, фМРТ с картированием двигательной зоны кисти; данные не совпадают.

До операции все пациенты с планируемой краниотомией в сознании (40 человек) были осмотрены нейропсихологом. До операции у 45 пациентов выполнена МРТ трактография с реконструкцией пирамидных трактов и

выполнялась оценка топографо-анатомических взаимоотношений ПТ и опухоли - (интактный, смещенный, инфильтрированный ПТ (Рисунок 11).

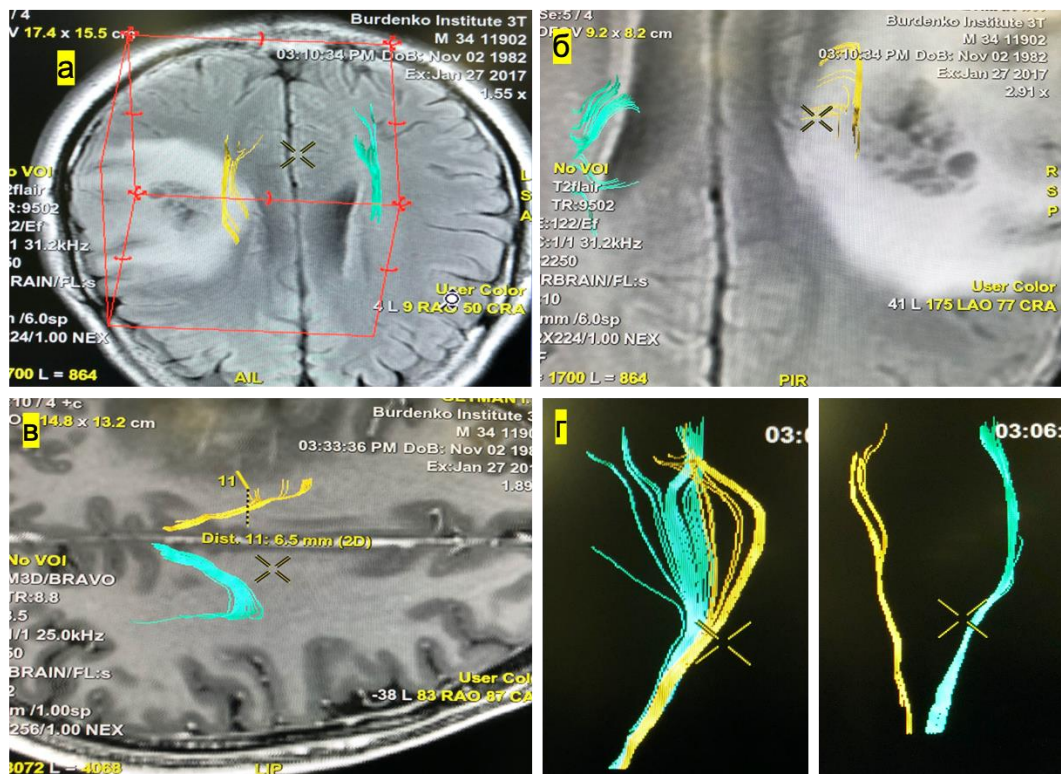


Рисунок 11 - а, б – Совмещенные данные 3Д-реконструированных КСТ и режима T2FLAIR у пациента с внутримозговой опухолью правого полушария лобно-теменно-островковой локализации (аксиальная проекция, вид сверху).

Определяется инфильтрация правого (желтого) тракта медиальным краем опухоли. в – совмещенные данные реконструированных трактов и режима T1+C, определено минимальное расстояние до зоны накопления контрастного препарата (6,5 мм). г, д – 3Д-реконструкция КСТ в боковой и прямой проекциях,

показывающая асимметрию трактов.

У 12 пациентов с внутримозговыми опухолями были построены длинные ассоциативные тракты (аркуатный тракт и лобный косой пучок) до и в первые 72 часа после операции. Тракты строились повторно для оценки взаимоотношения трактов и послеоперационной полости.

Проводилось дооперационное определение топографии взаимоотношения тракта и опухоли (тракт смещен/инфильтрирован/интактен) с данными

интраоперационной прямой электрической стимуляции.

ДТ-МРТ проводили на МР-томографе с магнитной индукцией 3,0 Тл с применением импульсной последовательности эхопланарное спиновое эхо (SE-EPI) и использованием 3 значений фактора диффузии b (0, 1000 и 2500 с/мм²) и 60 направлений диффузионных градиентов для каждого отличного от 0 b -фактора.

Для исследования были выбраны следующие значения приведенных ниже параметров: время TR = 10 000 мс, время TE = 103,4 мс, FOV = 240 x 240 мм, матрица изображения 80 x 80 с последующей интерполяцией до 256 x 256, толщина срезов 3 мм, расстояние между срезами 0 мм, NEX = 1, плоскость сканирования аксиальная.

Пример использования МР трактографии с построением пирамидного и аркуатного тракта у пациента с глиомой левой лобной доли приведен ниже (Рисунок 12).

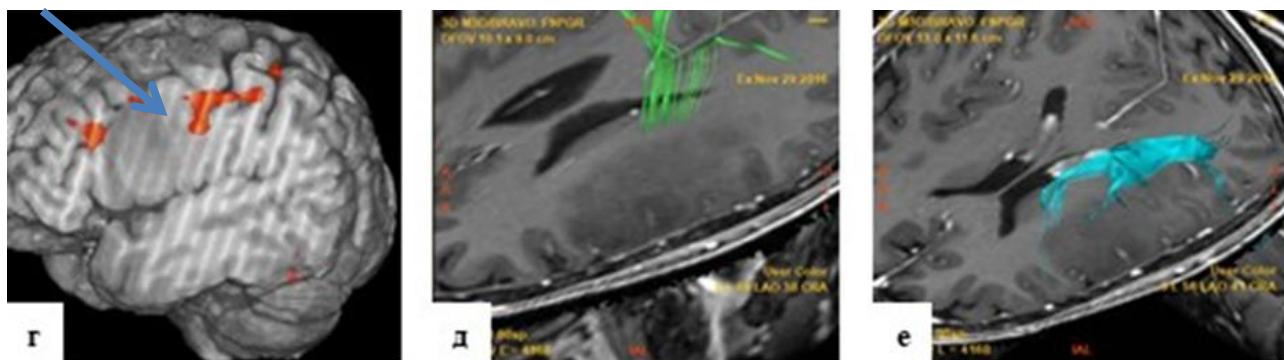


Рисунок 12 - Функциональная МРТ (г), зона Брока расположена по краю опухоли) и МР трактография с построением пирамидного (д) и аркуатного трактов (е) у пациента с внутримозговой опухолью левой лобной доли.

Предоперационное планирование (Зона Брока указана стрелкой).

Интраоперационный нейрофизиологический мониторинг и картирование двигательных зон коры и пирамидных трактов

Картирование моторных зон головного мозга (коры и пирамидных трактов) выполнено у 124 пациентов из общей выборки. При локализации опухолей вблизи

моторных корковых зон и пирамидных трактов в ходе резекции опухолей с 5-АЛК во время оперативных вмешательств нами использованы методики тройного нейрофизиологического контроля: ТК МВП, высокочастотная моно и биполярная электрическая стимуляция.

Интраоперационный нейрофизиологический мониторинг корковых речевых, зон и длинных ассоциативных трактов мозга

Сочетанное использование хирургии с «пробуждением» во время операции и техники флуоресценции применено у 40 пациентов с глиомами головного мозга. У всех пациентов оперативные вмешательства выполнены с «пробуждением» по протоколу asleep-пробуждение-asleep с использованием кортикальной и субкортикальной стимуляции с целью локализации функционально значимых структур и уточнения допустимого объема резекции.

Используемая сила тока для стимуляции речевых зон коры в среднем составляла 3 мА (1,9-6,5мА) при стимуляции коры и 14 мА при стимуляции трактов белого вещества. С целью контроля интраоперационных эпилептических приступов у пациента использован 8-контактный электрод. При возникновении электрических разрядов для предотвращения эпилептических приступов использовалась аппликация холодного физиологического раствора.

Прямая электростимуляция осуществлялась с помощью биполярного электрода трейнами. Во всех случаях при операциях для контроля эпилептической активности коры мозга использовалась электрокортикография. Для интраоперационной идентификации границ опухоли использовался ультразвук и флуоресцентная навигация с 5-аминолевуленовой кислотой (Аласенс).

Для интраоперационного мониторинга речи использовался компьютеризированный naming-тест [140] с называнием существительных или глаголов, по представленным простым черно-белым картинкам (всего по 30 картинок, изображающих действия или предметы), а также оценивались автоматизированные ряды (счет от 1 до 10, перечисление месяцев, дней недели). На протяжении всего пробуждения при отсутствии электростимуляции во время

удаления опухоли осуществлялся свободный диалог с больным.

Для проведения краниотомии в сознании был использован анестезиологический подход с применением ксеноновой анестезии. В основу данной методики заложена замена базового анестетика пропофола на ингаляционный анестетик ксенон. Такого рода замена должна была обеспечить быстрое и качественное пробуждения пациента перед проведением картирования головного мозга.

Для проведения ИВЛ использовался наркозный аппарат Felix Taema Dual (ALMS, Франция), специализированный для проведения анестезии ксеноном по закрытому контуру. Во время проведения 10-минутной денитрогенизации выполнялась регионарная анестезия нервов скальпа и инфильтрация места разреза. Анестезия в этот период поддерживалась инфузией пропофола 4–5 мг/кг/ч. После выполнения всех подготовительных манипуляций наркозный аппарат переводился в режим ксеноновой анестезии по закрытому контуру с целевым FiO_2 – 30% и концентрацией ксенона 55–65%. После снижения BIS до 40 инфузия пропофола прекращалась, а оперативное вмешательство начиналось.

От начала операции и до интраоперационного пробуждения анестезия поддерживалась только ингаляцией ксенона, регулируемой для поддержания BIS на уровне 35-50. Когда хирург и нейрофизиолог были готовы к началу картирования коры, подача ксенона прекращалась, а смесь в контуре удалялась за счет подачи свежего кислорода.

Всем пациентам до, во время и после операции проводилось нейропсихологическое исследование. Исследование включало называние предметов и действий по предъявляемым картинкам. Наблюдаемые во время операции эффекты электростимуляции: остановка речи и персеверации (лобная доля зона Брока), парафазии литеральные (лобная и височная доля), вербальные семантические (лобная и височная доля), описание функции предмета (стимуляция височной доли).

Кроме этих тестовых батарей для выявления речевых зон во время электростимуляции больного при интраоперационном пробуждении рутинно

использовались автоматизированные ряды, когда больной перечисляет месяцы, дни недели, считает от 1 до 10. Нарушения речи при использовании автоматизированных рядов также заключались в ее остановке, парафазиях и персеверациях. Выбор методов тестирования определялся состоянием конкретного больного во время операции. Всем больным, участвующим в исследовании, проводилось полное нейропсихологическое исследование по методу А.Р.Лурия (1962).

2.9 Послеоперационное МРТ исследование

Послеоперационная МРТ с оценкой волюметрии после операции была выполнена в первые 72 часа 62 пациентам с глиомами головного мозга.

Определены объемы опухоли в T1 режиме с контрастом до и после операции, T2-FLAIR режиме до и после операции (для контрастирующихся глиом n=45) и только в режимах T2 -FLAIR до и после операции (для неконтрастирующихся глиом n=17).

Объём новообразования рассчитывали по Macdonald D.R. et al., (1990). При этом объём резекции опухоли оценивали как: биопсию - при удалении <50%; частичное удаление – резекция 50–74% опухоли; субтотальное удаление – резекция 75–94% и тотальное – резекция 95% и более объёма опухоли.

2.10 Оценка неврологических исходов

Использовалась шкала Карновского (оценка в до и послеоперационном периоде), фиксировалось появление/нарастание очаговой неврологической симптоматики (в основном гемипарезов с оценкой по 5 балльной шкале) и афазий в первые 7 суток послеоперационного периода (к моменту выписки).

2.11 Оценка общей и безрецидивной выживаемости и катамнеза пациентов

Осуществлялось анкетирование пациентов и их опрос по телефону, а также путем анкетирования. Выяснялись следующие данные: состояние пациента на момент опроса, дата рецидива, дата летального исхода (если пациент скончался).

Дополнительно подсчитывались показатели общей и безрецидивной выживаемости с построением кривых Каплана-Майера.

Отдельно проводилась оценка феномена «длительной выживаемости» при глиобластомах (срок общей выживаемости более 3 лет, 84 пациента) - выполнен опрос пациентов по телефону и данным историй болезни. При доброкачественных глиомах выполнена отдельная оценка феномена анапластических переходов (179 человек) путем анализа данной выборки историй болезни с фиксацией дат и сроков между оперативными вмешательствами.

Пример анкеты для опроса пациентов:

1. Проводилась ли в послеоперационном периоде (подчеркнуть правильный вариант): лучевая терапия; химиотерапия; комбинированная химиолучевая терапия; не проводилась.
2. Когда возник первый рецидив после операции по данным МРТ? (написать дату).
3. Каково состояние пациента в настоящее время?: работает; не работает, но полностью себя обслуживает; нуждается в посторонней помощи; скончался (указать дату)*

*Примечание: в случае смерти пациента просим указать причину

От прогрессирования основного заболевания (опухоли)

От иной причины (указать какой)

2.12 Культивирование глиом мозга человека

Биопсийный материал был получен из ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России в среде DMEM/F12 (Invitrogen) с антибиотиком (Penicillin-Streptomycin, 100 U/ml). В течение трех часов после операции материал был доставлен в лабораторию. Материал помещали в чашку Петри в HBSS (Gibco), ткань очищали от сосудов и размельчали до мелких кусочков. Затем их центрифугировали и трипсинизировали 0,25% раствором Трипсин-EDTA (Gibco) в течение 15-20 минут. После остановки реакции ткань трижды ресуспензировали. Суспензию клеток помещали в культуральный матрас в ростовой среде (DMEM/F12 (Invitrogen); 10% FBS (Invitrogen); L-Glutamine (Invitrogen); Penicillin-

Streptomycin, 100 U/ml) и культивировали при температуре 37°C в CO₂ инкубаторе до 70% конфлюэнции. Клетки хранятся в среде DMEM (Gibco) при -180 °C. Данная работа по культивированию глиальных опухолей ведется совместно с Институтом биологии гена РАН в течении последних 3 лет. Параллельно осуществлялся сбор катмнеза (данных общей и безрецидивной выживаемости) пациентов, опухоли которых находятся на культивировании в Институте биологии гена РАН. Экспрессию генов ферментов каскада изучали с помощью метода RT ПЦР в культурах светящихся и несветящихся глиобластом.

2.13 Статистическая обработка материала

Статистический анализ данных выполнен с помощью языка программирования R (версия 3.4.4) в интегрированной среде разработки RStudio (1.2.1335). Для характеристики распределений непрерывных случайных величин использовали средние значения и стандартные отклонения. Распределения категориальных величин описывали с помощью долей (процентов). Для сравнения непрерывных случайных величин использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Взаимосвязь категориальных переменных устанавливали с помощью точного критерия Фишера. Функцию общей или безрецидивной выживаемости оценивали с помощью кривой Каплана-Мейера. Анализ предикторов общей и безрецидивной выживаемости выполнен с помощью лог-рангового критерия и модели регрессии Кокса (в одномерном и многомерном случаях). Различия или взаимосвязь признавали статистически значимыми на уровне значимости $p < 0,05$.

Глава 3 Сравнительный анализ чувствительности метаболической навигации в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности, интракраниальных менингиом и метастазов

3.1 Особенности флуоресценции глиом низкой степени злокачественности

Ниже приводятся данные о гистологических формах доброкачественных глиом, оперированных в клинике, с использованием метаболической навигации, с учетом пациентов, оперированных в 2020 году (Таблица 9).

Таблица 9 - Данные о чувствительности ФД с 5-АЛК при различных типах глиом головного мозга низкой степени злокачественности

Гистология	5-АЛК +	5-АЛК -
LGG (n=56)	26 (46,4%)	30 (53,6%)
Астроцитома пилоидная	3 (100%)	0 (0%)
Астроцитома диффузная	6 (25%)	18 (75%)
Астроцитома гемистоцитарная	3 (100%)	0 (0%)
Ганлиоастроцитома	0 (0%)	1 (100%)
Неинфантильная десмопластическая ганглиоглиома	1 (100%)	0 (0%)
Олигоастроцитома*	8 (50%)	8 (50%)
Олигодендроглиома	3 (50%)	3 (50%)
Плеоморфная ксантоастроцитома	2 (100%)	0 (0%)

* примечание – в связи с тем, что часть пациентов оперированы до 2016 года в этих случаях использована классификация опухолей ЦНС 2007 года.

Среди доброкачественных глиом наименьшая чувствительность ФД отмечалась при диффузных астроцитомах (6/18 или 75%), наибольшая – при пилоидных (3/0 или 100%), гемистоцитарных астроцитомах (3/0 или 100%) и

плеоморфных ксантоастроцитомах (2/0). Опухоли с олигокомпонентом (олигодендроглиомы и олигоастроцитомы) показали свечение в 50% наблюдений.

Из 26 флуоресцирующих глиом низкой степени злокачественности 18 (69,2%) флуоресцировали в виде фокусного типа свечения и 8 (30,8%) диффузно.

Клиническое наблюдение 1

Ж., 56 лет, диффузная астроцитома, IDH 1 (+), больная – правша), рис. 28. Заболевание дебютировало с однократного эпилептического приступа. При МРТ выявлена диффузная опухоль левой лобной доли. До операции выполнено фМРТ, найдена зона Брока (указана стрелкой, рис С). При МРТ трактографии построены пирамидные тракты, расположенные вблизи опухоли. Во время операции использована метаболическая навигация и краниотомия в сознании. При этом отмечалось яркое свечение коры, пораженной опухолью. Удаление опухоли проводилось с параллельным непрерывным речевым контактом с пациентом. При появлении речевых нарушений резекция опухоли была остановлена. После операции отмечались транзиторные речевые нарушения. При МРТ головного мозга после операции в первые 48 часов – парциальное удаление Гистология Grade II астроцитома, NOS (Рисунок 13).

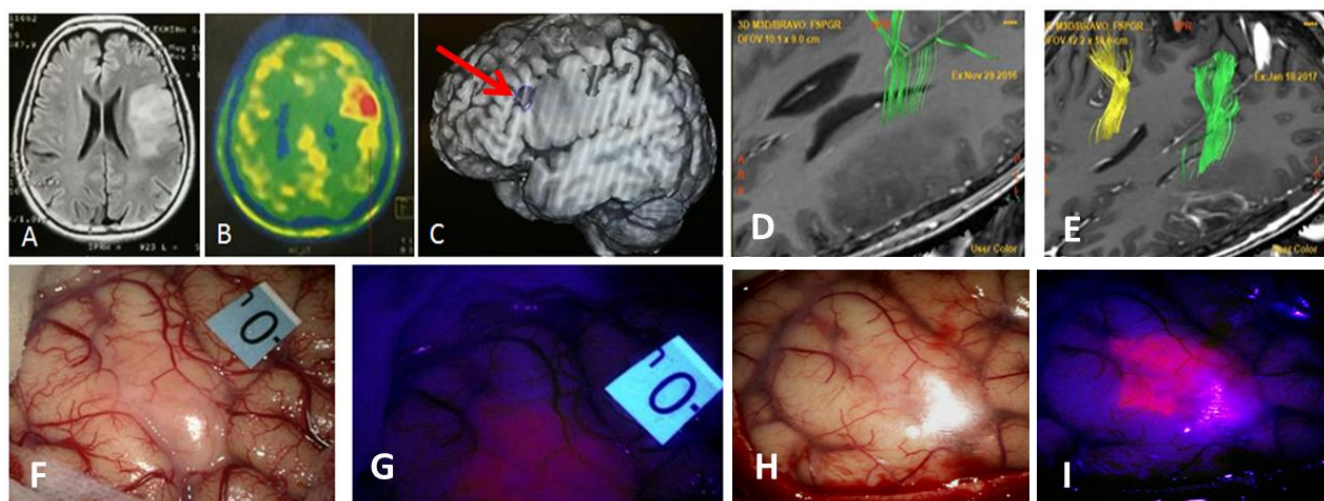


Рисунок 13 – Ж., 56 лет, клиническое наблюдение 1. Флуоресцентная диагностика у пациента с диффузной астроцитомой левой лобной доли. А: дооперационная МРТ в режиме T2-FLAIR, аксиальный срез, В – предоперационная ПЭТ головного мозга с метионином, индекс накопления 1.5, С – предоперационная функциональная МРТ, стрелкой обозначена зона Брока, D – предоперационная МРТ-трактография, Е – послеоперационная МРТ трактография, визуализируются кортикоспинальные тракты на отдалении от послеоперационной полости, F и H – интраоперационные фотографии с микроскопа в белом свете, визуализируется кора, изменен ее рисунок, 0 – обозначена моторная зона правой руки (кисть), G и I – интраоперационные фотографии во флуоресцентном режиме микроскопа, отмечается бледная и яркая флуоресценция опухоли, выходящей на кору мозга.

После операции у пациентки отмечались транзиторные речевые нарушения по типу моторной и амнестической афазии, регрессировавшие через 7 суток. После выписки пациентка получила комбинированное химиолучевое лечение. Через 12 месяцев у этой же пациентки наблюдалась анапластическая трансформация с переходом опухоли в глиобластому (переход Grade II-IV). Перед повторной операцией у пациентки отмечалась грубая афазия, в связи с чем повторная резекция выполнена без интраоперационного пробуждения (Рисунок 14).

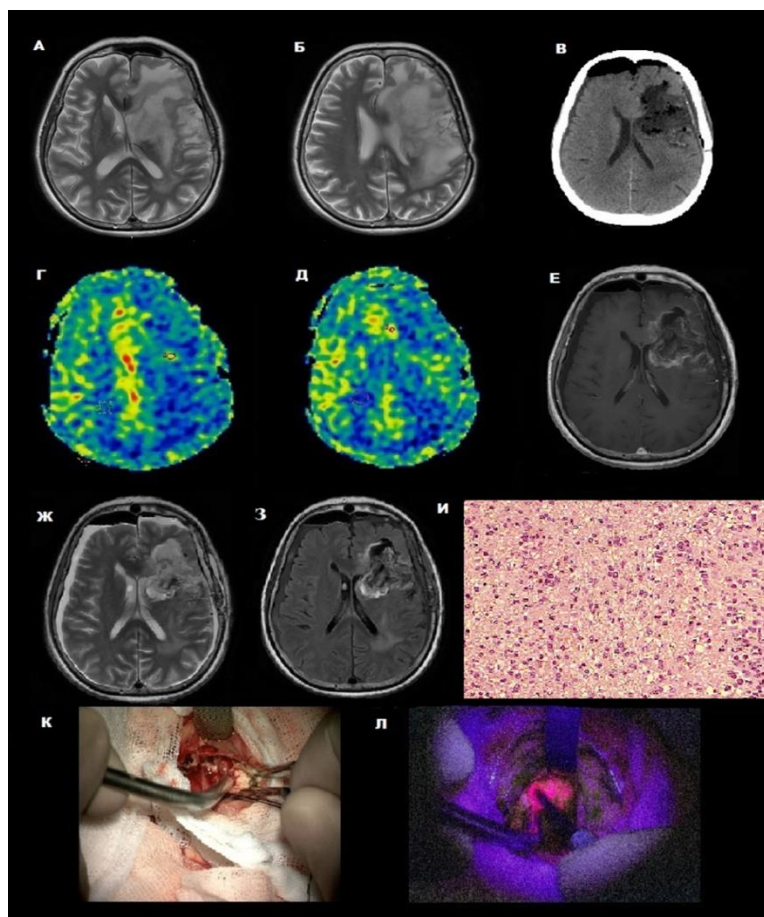


Рисунок 14 - Вторичная глиобластома левой лобно-височно-подкорковой области. А-Б - предоперационная МРТ T2 ВИ, аксиальные срезы, В - послеоперационная КТ, аксиальный срез, визуализируется ложе удаленной опухоли, Г-Д - ASL-перфузионное исследование после операции, зон повышенного кровотока нет; Е - послеоперационная МРТ T1 ВИ с контрастом, тотальное удаление контрастирующейся части опухоли, аксиальный срез, Ж - послеоперационная МРТ T2 ВИ, аксиальный срез, З - послеоперационная МРТ в режиме T2-FLAIR, аксиальный срез, И - вид патоморфологического препарата опухоли, К - интраоперационная фотография в белом цвете (микроскоп), Л - интраоперационная фотография в режиме флюоресценции (микроскоп): отмечается яркое свечение опухоли.

После операции у пациентки сохранялась стойкая моторная афазия. При МРТ головного мозга в первые 24 часа после операции достигнуто полное удаление контрастируемой части опухоли (рис). Больная была направлена на повторный курс лучевой терапии, химиотерапии темодалом. Данное наблюдение показывает возможность быстрой (в течении 1 года) анапластической трансформации

изначально доброкачественной гистологически, но флуоресцирующей глиомы во вторичную глиобластому.

Клиническое наблюдение 2

М., 20 лет внутримозговая опухоль правой лобной доли. Однократный генерализованный эпилептический приступ до операции. Яркое свечение диффузного типа. Гистология – диффузная астроцитома IDH 1 (+) Grade II (Рисунок 15).

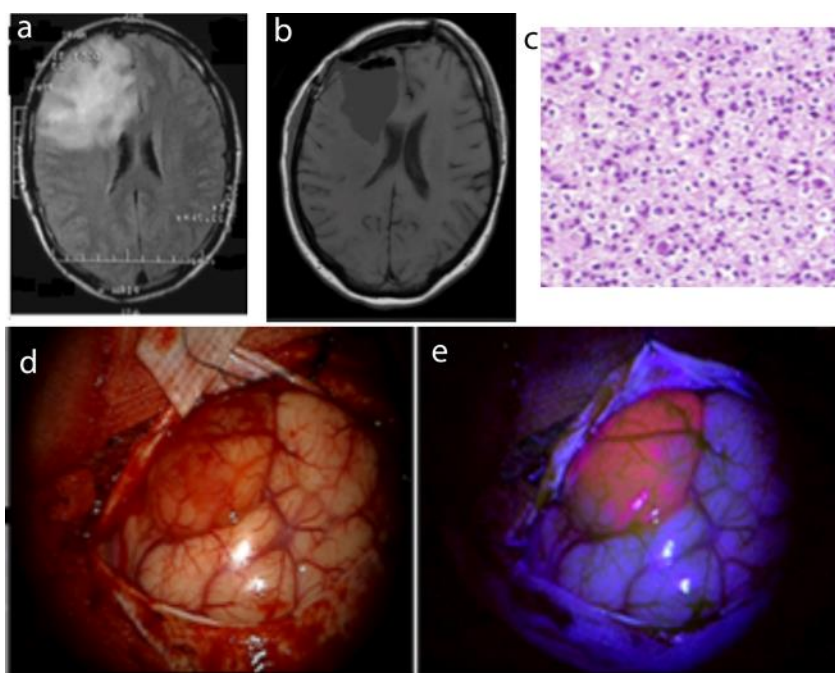


Рисунок 15. М., 20 лет, клиническое наблюдение 2. Флуоресценция олигодендроглиомы правой лобной доли. Диффузное яркое свечение опухоли: а) МРТ до операции, T2 FLAIR аксиальный срез, б) МРТ после операции, аксиальный T1 срез, с) данные гистологического исследования, д) фотография в белом свете до кортикотомии и е) фотография во флуоресцентном режиме, яркое свечение в микроскопе.

3.2 Особенности флуоресценции глиом высокой степени злокачественности

Ниже приведены данные по флуоресценции глиом высокой степени злокачественности (Таблица 10).

Таблица 10 - Чувствительность ФД с 5-АЛК при различных типах глиом высокой степени злокачественности.

Гистология	Свечение +	Свечение -
НГГ (n=164)	143 (87,1%)	21 (12,9%)
Анапластическая астроцитома	19 (65,5%)	10 (34,5%)
Анапластическая олигоастроцитома*	5 (62,5%)	3 (37,5%)
Анапластическая олигодендроглиома	4 (66,7%)	2 (33,3%)
Глиобластома	108 (94%)	7 (6%)
Глиосаркома	6 (100%)	0 (0%)

* примечание – в связи с тем, что часть пациентов оперированы до 2016 года в этих случаях использована классификация опухолей ЦНС 2007 года.

Среди глиом высокой степени злокачественности до 12,9 % опухолей являются флуоронегативными, при этом частота флуоронегативных случаев в группе анапластических глиом (Grade III) доходит до 34,5% случаев, а флуоронегативных глиобластом – 6%. В результате исследования установлено достоверное влияние степени злокачественности опухоли (Grade) на факт свечения во время операции (взаимосвязь статистически значима ($p < 0.05$), рис. 36. При анализе флуоресценции в группе анапластических глиом выявлено, то видимая флуоресценция была отмечена у 5 (71,4%) из 7 пациентов с анапластическими олигоастроцитомами (яркая – в 2 случаях, умеренная – в 2 случаях и слабая – в 1 случае). При анапластических астроцитомах свечение выявлено у 19 из 29 пациентов (65,5%), при этом яркое свечение наблюдалось в 6 случаях, умеренное – в 10 и слабое – 3. У 2 пациентов с анапластической олигодендроглиомой видимая флуоресценция не отмечалась.

Видимая флуоресценция была обнаружена у 108 (94%) из 115 пациентов с глиобластомами: у 8 (7,4%) из них наблюдалось слабое свечение, у 38 (35,1%) – умеренное, и у 56 (51,8%) – яркое. Флуоресценция отсутствовала у 6 (6%) пациентов с глиобластомами. У 4 (67%) пациентов с глиосаркомами отмечалась

слабая флуоресценция, у 2 (33%) – умеренная. Видимая флуоресценция была обнаружена у 29 (93,5%) из 31 пациента с рецидивами глиом головного мозга (Рисунок 16).

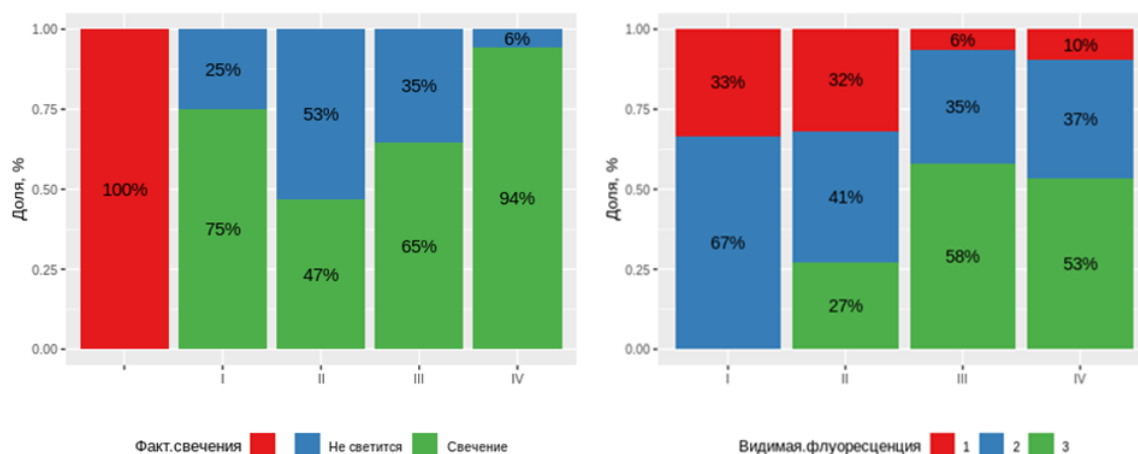


Рисунок 16 - А: диаграмма связи факта свечения в подгруппах глиом с различной степенью злокачественности, различия статистически значимые. Б: диаграмма распределения интенсивности флуоресценции среди флуоресцирующих глиом. (1 – слабое, 2 – умеренно выраженное, 3 – яркое), определяемое субъективно хирургом через окуляры микроскопа во время операции, у пациентов с глиомами головного мозга (n=220).

Наиболее часто яркая флуоресценция отмечалась у пациентов с анапластическими глиомами (58%), что, вероятно, связано с отсутствием у них зоны некроза по сравнению с пациентами с глиобластомами (53%). Интересно отметить, что 10% глиобластом имели слабую степень свечения опухоли, по сравнению с 32% у пациентов с глиомами низкой степени злокачественности. В результате статистического анализа было установлено, что взаимосвязь между степенью злокачественности глиомы и яркостью ее свечения статистически значима ($p = 0,01$) (Рисунок 17).

Использование метаболической навигации в хирургии глиом высокой степени злокачественности приведено ниже (Рисунок 18).

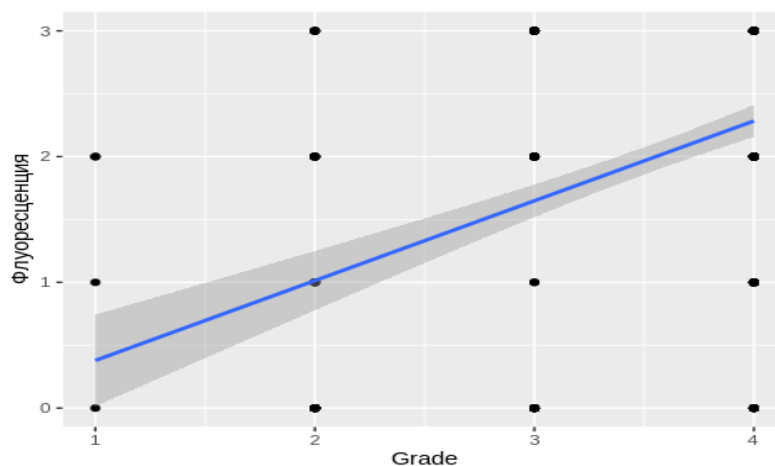


Рисунок 17 - Корреляционный анализ методом Спирмена показал, что взаимосвязь интенсивности свечения и степени злокачественности глиомы статистически значима ($p < 0,05$, коэффициент корреляции составил 0,4).

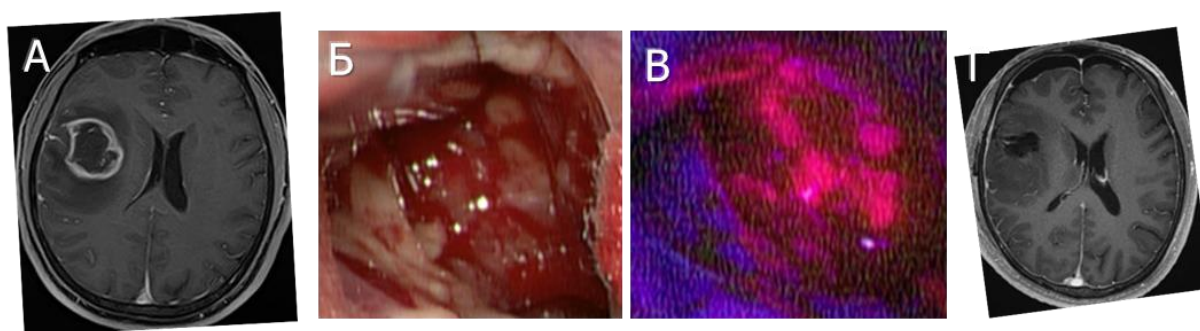


Рисунок 18 - М., 42 лет. Глиобластома правой лобной доли. А – МРТ в T1 режиме аксиальный срез до операции, Б – интраоперационная фотография в белом свете с микроскопа, В – интраоперационная фотография в режиме флуоресценции с микроскопа, отмечается яркое свечение опухоли, Г – послеоперационная МРТ в T1 режиме, аксиальный срез, тотальное удаление контрастируемой части опухоли.

Во всех случаях отмечалась яркая флуоресценция опухоли. При локализации глиом в функционально значимых зонах во время резекции использовался нейрофизиологический мониторинг. При достижении функционально значимых зон резекция останавливалась даже при наличии остаточного свечения опухоли (Рисунок 19).

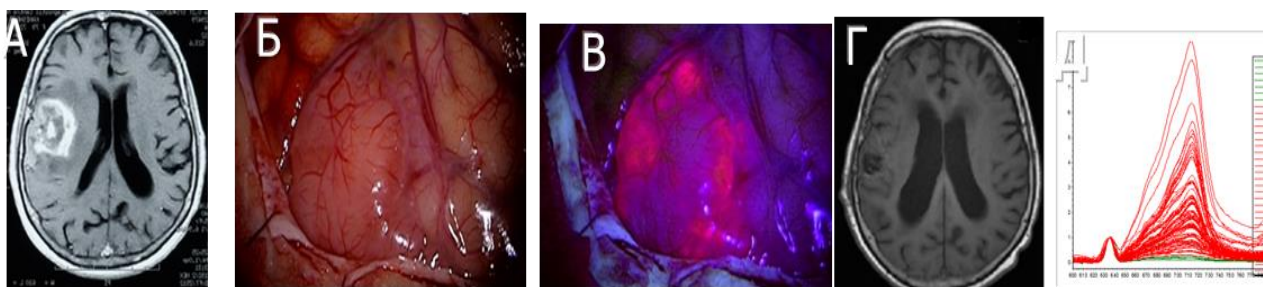


Рисунок 19 - Ж., 63 лет с глиобластомой правой лобной доли. А: МРТ с контрастом, аксиальный срез до операции; Б – интраоперационная фотография в белом свете с микроскопа, В – интраоперационная фотография в режиме флуоресценции с микроскопа, отмечается яркое свечение опухоли, Г – послеоперационная МРТ в Т1 режиме, аксиальный срез, тотальное удаление контрастируемой части опухоли, Д – интраоперационная спектрограмма, спектры постепенно снижаются по мере удаления глиобластомы.

Таким образом, гистология глиомы достоверно влияет на флуоресцентный эффект во время операции, в частности LGG светятся достоверно реже, чем HGG, другой важной особенностью является достоверно более частая флуоресценция у пациентов с олигодендроглиомами по сравнению с астроцитарными глиомами, однако для степени выраженности флуоресцентного эффекта последняя взаимосвязь была не достоверной.

3.3 Флуоресценция при интракраниальных менингиомах

Из 101 пациента с интракраниальными менингиомами у 95 (94,05%) наблюдалась интраоперационная флуоресценция опухоли. При визуальной оценке видимой флуоресценции через операционный микроскоп яркая флуоресценция отмечалась у 60 (63,15%) пациентов, умеренная — у 23 (24,2%) и слабая — у 12 (12,63%).

3.4 Флуоресценция при интракраниальных метастазах

Видимая флуоресценция регистрировалась в 61 (84,7%) из 72 опухолевых очагов, из них слабая – в 14 (22,9%), умеренная – в 16 (26,3%), выраженная – в 31 (50,8%). Отсутствие флуоресценции наблюдалось в 11 (15,3%) очагов. Ниже

приводится сравнительная таблица чувствительности метаболической навигации у пациентов с глиомами низкой степени злокачественности, высокой степени злокачественности, интракраниальными менингиомами и метастазами (Приложение Г).

3.6 Сравнительный анализ глиом Grade II (диффузных астроцитом, олигодендроглиом) и глиом Grade III (анапластических астроцитом и анапластических олигодендроглиом) на флуоресцентный эффект

Для анализа были изучены особенности свечения у 99 пациентов с глиомами Grade II-III головного мозга (астроцитарные vs олигодендроглиальные). Данные о наличии или отсутствии олигокомпонента в глиоме и факте свечения доступны для 97 пациентов с глиомами Grade II-III (Таблица 11).

Таблица 11 - Данные о факте свечения глиом с учетом наличия в них олигокомпонента.

Гистология глиомы	Нет свечения	Есть свечение
астроцитарные	28 (46,7%)	32 (53,3%)
олигодендроглиальные	15 (40,5%)	22 (59,5%)

В результате анализа с использованием метода Пирсона установлена достоверная связь между наличием олигокомпонента в структуре глиом Grade II-III и фактом свечения опухолей ($p < 0.05$) то есть олигодендроглиальные опухоли флуоресцировали чаще астроцитарных (59,5% против 53,3%).

Данные о яркости свечения доступны для 54 пациентов Астроцитарные и олигодендроглиальные глиомы Grade II-III по яркости флуоресцентного эффекта значимо не отличались ($p = 0,08$) (Таблица 12).

Таблица 12 - Распределение по яркости свечения у пациентов с глиомами головного мозга Grade II-III в зависимости от подтипа глиомы.

Гистология глиомы	Степень свечения		
	Слабое свечение	Умеренное свечение	Яркое свечение
астроцитарные	5 (15,6%)	11 (34,4%)	16 (50%)
олигодендроглиальные	4 (18,2%)	8 (36,4%)	10 (45,5%)

3.7 Связь повторных резекций у флуоресцентного эффекта в хирургии глиом головного мозга при опухолях высокой степени злокачественности

Среди исследуемой группы пациентов 139 человек были оперированы в первый раз (85%), 25 пациента – повторно в связи с рецидивом заболевания (15%). При повторных резекциях отмечалась несколько более высокая частота свечения (91,7%) против 80,9% флуоропозитивных случаев в группе первичной операции. Однако, взаимосвязь между указанными признаками статистически не значима ($p = 0.09$). При анализе типа операции (первичная или повторная) и степени флуоресценции (слабая или умеренная или яркая) также не получено значимой взаимосвязи ($p = 0.48$). Ниже приведены клинические примеры с повторными резекциями глиом головного мозга с применением метаболической навигации.

Клиническое наблюдение 3

М., 39 лет с продолженным ростом глиобластомы левой лобной доли (Рисунок 20). Из анамнеза - болен около года назад (дебют заболевания с эпилептического приступа). При МРТ головного мозга выявлено объемное образование в левой лобной доле с компрессией левого бокового желудочка, смещением срединных структур. В Центре нейрохирургии выполнено удаление опухоли. Морфологическое заключение - глиобластома. После операции проведен курс стереотаксической радиотерапии на установке Примус, подведено 30 фракций по 2,2 Гр в изоцентре с одновременным применением Темодала (10 курсов). Через 2 года после операции отмечает нарастание частоты эпилептических приступов, усилена противосудорожная терапия, приступы контролируются. Однако в связи с нарастанием головной боли выполнена МРТ: выявлены признаки прогрессии опухоли (размер 5,6×2,7 см, накапливающее контраст). Через 2, 5 года проведена повторная операция: удаление глиобластомы с продолженным ростом в левой лобной области с интраоперационной сонографией, флуоресцентной диагностикой, нейрофизиологическим мониторингом двигательных зон и пирамидного тракта и лазерной спектроскопией. Во время операции на начальном этапе отмечалась слабая неоднородная флуоресценция, которая постепенно

усилилась и стала яркой и гомогенной. В конце операции выполнена контрольная флуороскопия ложа удаленной опухоли, в ходе которой отмечалась остаточная флуоресценция в ложе. Удалены остатки опухоли. В послеоперационном периоде нарастания неврологической симптоматики не отмечено. Послеоперационный период протекал гладко, заживление раны первичным натяжением, швы сняты на 8-е сутки. В удовлетворительном состоянии выписан для дальнейшего лечения по месту жительства.

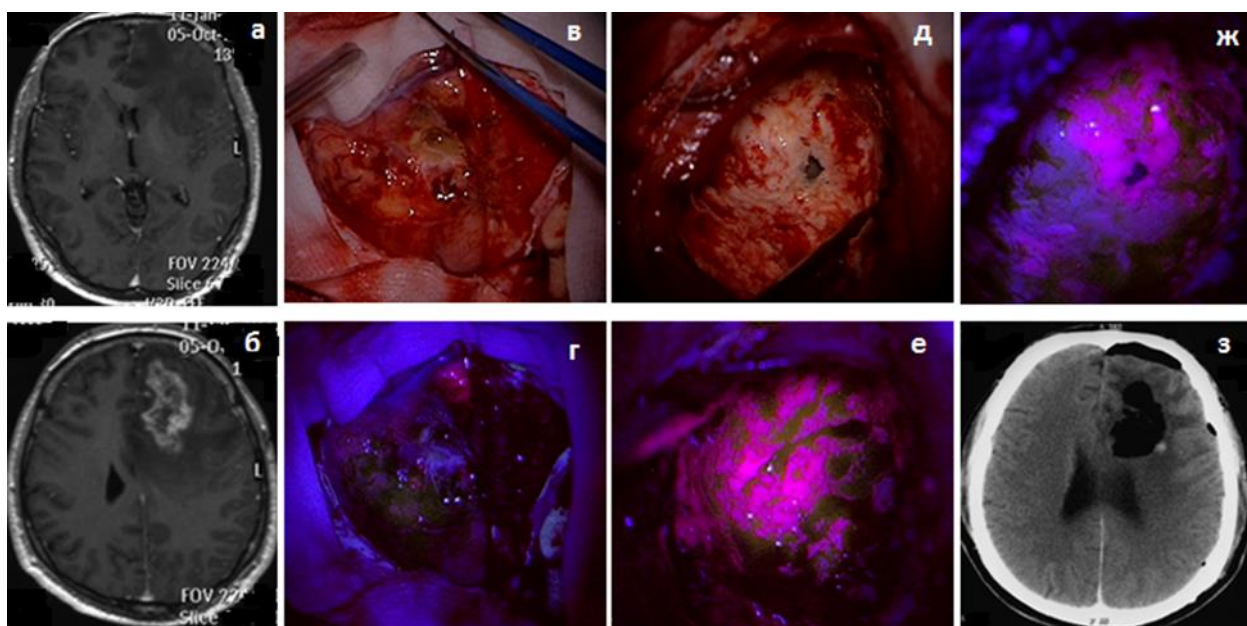


Рисунок 20 - Интраоперационная флуоресцентная диагностика у пациента с продолженным ростом глиобластомы левой лобной доли на различных этапах оперативного вмешательства. а, б - МРТ до и после контрастного усиления до операции, аксиальные срезы; в, г - интраоперационные фотографии в белом свете и в режиме BL400 на начальном этапе операции, отмечается слабая флуоресценция; д, е - интраоперационные фотографии в середине этапа удаления опухоли, интенсивность видимой флуоресценции значительно усилилась, вид в белом свете и в режиме BL 400; ж - остаточная флуоресценция в конце этапа удаления опухоли, интраоперационная фотография в режиме BL400; з - послеоперационная СКТ головного мозга в первые 24 ч.

Клиническое наблюдение 4

М., 42 года, с продолженным ростом анапластической астроцитомы левой лобно-височной области. Впервые оперирован 21.11.05 - проведено удаление глиомы лобно-височной области слева. Морфологическое заключение:

анапластическая астроцитома. Проведен курс лучевой терапии (60 Гр), 7 курсов Темодала. Продолженный рост опухоли в мае 2013 г. (через 7,5 лет), при МРТ выявлено объемное образование в левой лобно-височной области с интенсивным накоплением контрастного препарата, неоднородной структуры, размером 72×81×44 мм. При позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с метионином, выполненной в Институте мозга человека РАН, индекс накопления в зоне интереса составил 2,58. Повторная операция (05.07.13) - удаление опухоли с продолженным ростом в левой лобно-височной области с использованием интраоперационного нейрофизиологического мониторинга, УЗ-сканирования и флуоресцентной навигации. Во время оперативного вмешательства отмечалась яркая флуоресценция солидной части опухоли (Рисунок 21).

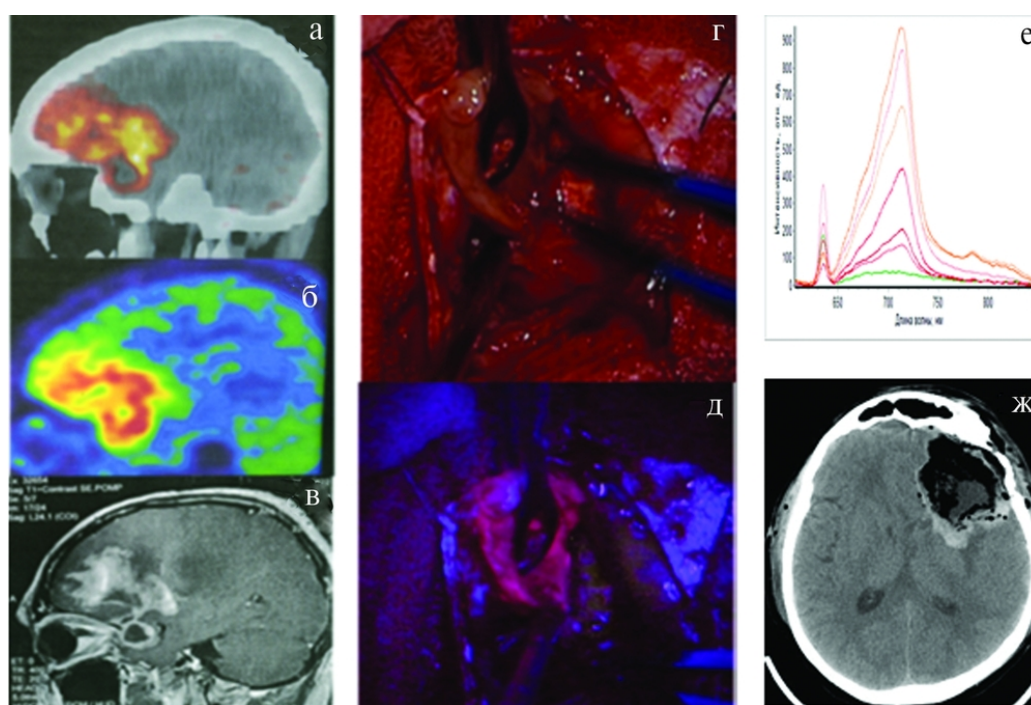


Рисунок 21 - Предоперационная и интраоперационная метаболическая навигация у пациента с анапластической астроцитомой левой лобно-височной области. а, б - предоперационные ОФЭКТ-КТ и ПЭТ (индекс накопления метионина 2,58); в – предоперационная МРТ с контрастным усилением; г - интраоперационная фотография, вид в белом свете; д - интраоперационная фотография, вид в режиме BL400, отмечается интенсивная видимая флуоресценция; е - интраоперационная лазерная спектроскопия в различных участках опухоли; ж - послеоперационная СКТ головного мозга в 1-е сутки после операции.

Клиническое наблюдение 5

Ж., 35 лет, с продолженным ростом внутримозговой опухоли левой теменно-парасагиттальной области с распространением на валик мозолистого тела и подкорковые ганглии слева (Рисунок 22).

Анамнез: болеет с ноября 2006 г., когда появилась головная боль, приступы головокружения и судорог в правой ноге. 04.06.07 г. проведена операция: удаление астроцитомы левой теменной доли с использованием интраоперационного нейрофизиологического мониторинга. Биопсия №4572-75/07 от 04.06.07: астроцитома диффузная Grade II (фибрилярно-протоплазматическая) с умеренным полиморфизмом ядер и участками плотного расположения клеток. С апреля 2014 г. - ухудшение состояния. По данным МРТ головного мозга, признаки продолженного роста опухоли в виде множественных узлов с кольцевидным типом накопления контрастного препарата, преимущественно расположенных в теменно-парасагиттальной области до валика мозолистого тела в виде множественных узлов разного размера с распространением в подкорковые структуры. Наиболее крупные участки опухоли представлены зоной некроза и расположены конвекситально с выходом на кору левой теменной и затылочной долей, более мелкие участки расположены глубинно в области валика мозолистого тела, в подкорковых ганглиях и внутренней капсуле слева, с внедрением в задний рог левого бокового желудочка.

В ходе повторного оперативного вмешательства выполнено парциальное удаление опухоли. В ходе операции использован метод флуоресцентной диагностики с применением микроскопа OPMI Pentero. При освещении измененных участков коры головного мозга в режиме BL 400 отмечено ярко-малиновое свечение. В ходе удаления опухоли отмечалась яркая гетерогенная по характеру флуоресценция и высокие показатели накопления ПП IX, по данным лазерной спектроскопии, с повышением индекса флуоресценции до 20 ед. (фоновый уровень от интактной мозговой ткани - 2 ед.).

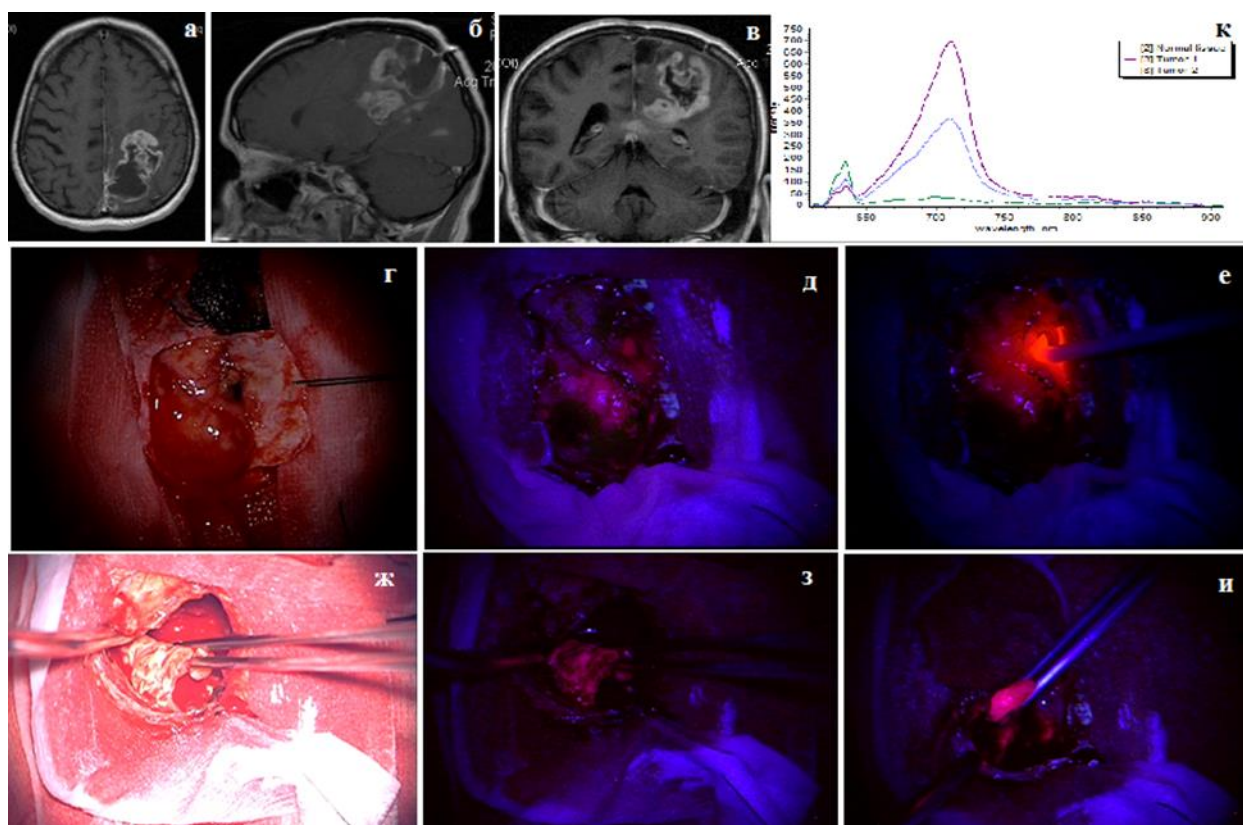


Рисунок 22 - Интраоперационная флуоресцентная диагностика и лазерная спектроскопия у пациентки 35 лет с продолженным ростом глиомы левой теменной области. а-в - предоперационные МРТ в 3 проекциях; г - интраоперационная лазерная спектроскопия; д - интраоперационная фотография в белом свете; е - интраоперационная фотография в режиме VL400 (отмечается интенсивная флуоресценция опухоли); ж - выполнение флуоресцентной спектроскопии с помощью лазерного зонда.

Побочные действия 5 АЛК в исследуемой группе (403 пациента)

При анализе побочного действия препарата в нашей группе данные явления были выявлены у 12 пациентов (3%). Они включали в себя: 1) явления фотосенсибилизации в течении 1-2 суток после операции - у 4 пациентов; 2) тошнота и рвота - у 2; 3) транзитное повышение трансаминаз печени - у 6. Все побочные явления были кратковременными и рещрессировали в первые 72 часа после опертивного вмешательства.

Резюме главы 3

Таким образом, общая чувствительность метаболической навигации в исследуемой группе опухолей с включением всех гистологических вариантов (глиом, менингиом и метастазов) составила 78,7%. В результате сравнительного исследования выявляется высокая чувствительность метода метаболической навигации в хирургии злокачественных глиом (в том числе с продолженным ростом), и интракраниальных менингиом (соответственно, 87,1% и 94%). При этом для глиом Grade IV чувствительность ФД с 5-АЛК составила 94%, для глиом Grade III - 65,5%. Яркая флуоресценция несколько чаще отмечалась при глиомах Grade III (58%) относительно глиобластом (53%). Небольшая часть глиобластом были флуоронегативными (6%), а часть имела низкий уровень свечения (10%).

При анализе повторных операций в хирургии глиом высокой степени злокачественности частота флуоресценции составила 91,7% по сравнению с группой первичных резекций (80,9%).

В хирургии диффузных глиом низкой степени злокачественности чувствительность метаболической навигации значительно ниже и составляет 46%: минимальная частота свечения отмечалась при диффузных астроцитомах - 25%, максимальная - при пилоидных астроцитомах, ксантоастроцитомах – 100% и промежуточная при олигоденроглиальных опухолях – 50%. Среди глиом Grade II-III несколько чаще флуоресцировали олигодендроглиальные опухоли (59,5%) относительно астроцитарных (53,5%) без четкой разницы в силе свечения.

В хирургии метастазов различных раков в головном мозге выявляется высокая чувствительность метода в солидной части опухоли (87,3%).

Глава 4 Клинические, нейровизуализационные и патоморфологические предикторы эффективности метаболической навигации в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности

4.1 Влияние эпилептических приступов и приема противосудорожных препаратов до операции на флуоресцентный эффект

Данные о наличии эпилептических приступов и факте свечения доступны для 142 пациентов, из них приступы до операции отмечались у 63 пациентов, а их отсутствие – у 79. Среди пациентов с эпилептическим синдромом флуоресцентный эффект отмечался у 51 пациента (81%), а без эпилептических приступов – у 67 (84,8%). При анализе влияния наличия эпилептических приступов до операции на флуоресцентный эффект достоверной связи между признаками не получено ($p = 0.700934$). Также не было взаимосвязи между количеством приступов до операции (единичный/множественные) на флуоресцентный эффект ($p = 0.2506925$).

Нами выполнено исследование флуоресцентного эффекта и прослежена связь с приемом противосудорожных препаратов у 27 пациентов с диффузными глиомами, у которых была точная информация о наличии или отсутствии судорожного синдрома, а также приеме противосудорожных препаратов. Из данной подгруппы 15 пациентов имели судорожный синдром и получали противосудорожные препараты (1 из 3 противосудорожных препаратов – карбамазепин, вальпроовую кислоты или левитерацетам), 12 пациентов не получали АЭП. Длительность приема данных лекарственных препаратов до операции составляла от 1 месяца до 1 года.

При анализе влияния противосудорожных препаратов было выявлено, что из 15 пациентов, принимавших до операции АЭП, в 11 наблюдениях не имелось свечения (73%). Среди 12 пациентов, не получавших АЭП, имелось свечение в 10

случаях (83%). Разница была статистически значимой ($r = 0,56$; $p = 0,045$) - (Таблица 13).

Таблица 13 - Данные о флуоресценции и приема противосудорожных препаратов у пациентов с доброкачественными глиомами.

Свечение	Противосудорожные препараты есть	Противосудорожных препаратов нет	Итого:
Свечение есть	4	10	14
Свечения нет	11	2	13
Итого:	15	12	27

Таким образом, прием противосудорожных препаратов при доброкачественных глиомах достоверно снижал частоту свечения данных глиом. Мы не проводили отдельного исследования, посвященного влиянию каждого противосудорожного препарата на флуоресценцию в отдельности поскольку группа пациентов с АЭП составляла всего 15 человек (пациенты принимали кеппру, финлепсин, трилептал и депакин).

Прием противосудорожных препаратов также достоверно влияет на флуоресцентный эффект в хирургии глиом низкой степени злокачественности. Однако, при анализе на большей серии, включающей 110 пациентов с глиомами Grade II-IV, данная закономерность не отмечалась. Возможно, это связано с включением в анализ не только глиом низкой, но и высокой степени злокачественности, а также преимущественным использованием кеппры (58%), в то время как в нашей серии пациенты получали различные противосудорожные препараты (вальпроевую кислоту, кеппру, финлепсин).

4.2 Влияние объема контрастирующейся и неконтрастирующейся частей опухоли на флуоресцентный эффект

Данные о контрастировании по дооперационным МРТ доступны для 62

пациентов с глиомами головного мозга, из них 16 глиом не контрастировались, 46 – накапливали контраст. Объем контрастирующейся части опухоли варьировал от 0 до 166,2 см³, медиана составила 15,78 см³ (25% - 0 см³; 75% - 48,535 см³). Объем неконтрастирующейся части опухоли варьировал от 3.88 см³ до 253.3 см³, медиана составила 104,16 см³ (25% - 60,38 см³; 75% - 140,07 см³). - (Рисунок 23).

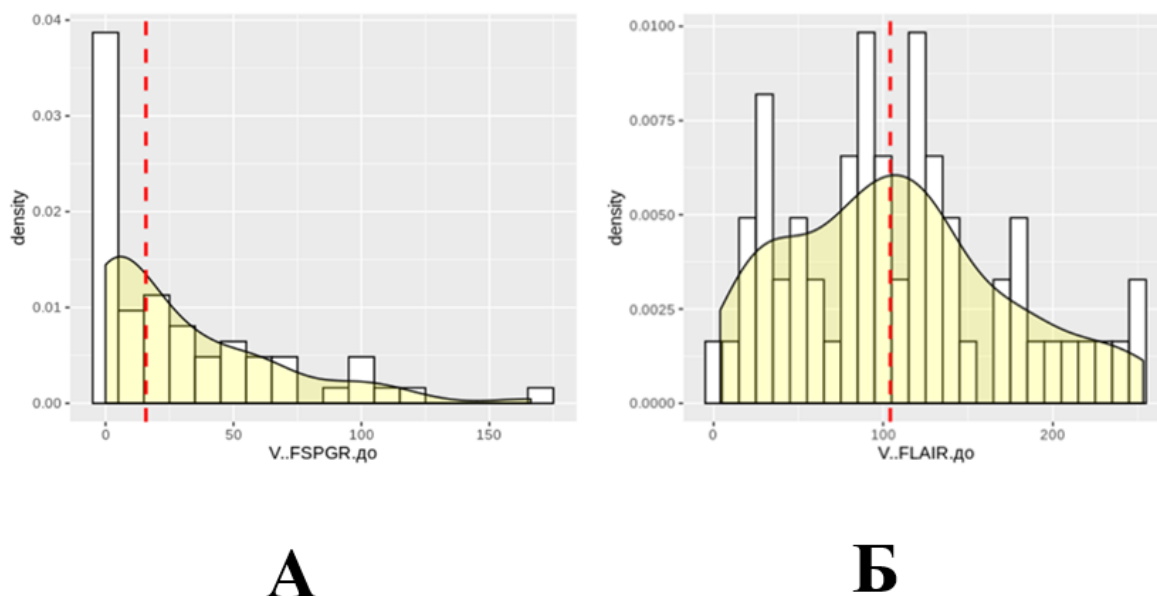


Рисунок 23 - Распределение объема контрастирующейся (А) и неконтрастирующейся (Б) объемов опухолей в исследуемой группе.

Объем контрастирующейся и неконтрастирующейся части были подсчитаны в абсолютных значениях опытным нейрорентгенологом. Показатели флуоресценции были описаны полуколичественным методом (0- отсутствие свечения, 1 – слабое свечение, 2 – умеренное свечение, 3 – яркое свечение).

В результате анализа с использованием корреляции по Спирмену установлена значимая взаимосвязь между объемом контрастирования глиомы (в см³) и интенсивностью флуоресценции ($p=0.002$, коэффициент корреляции составил 0.603). В тоже время при исследовании аналогичной взаимосвязи с объемом неконтрастируемой части опухоли (по данным режима T2 FLAIR) взаимосвязь была на границе статистической значимости ($p = 0.0546161$), коэффициент корреляции составил 0.2494283, анализ по Спирмену (Рисунок 24).

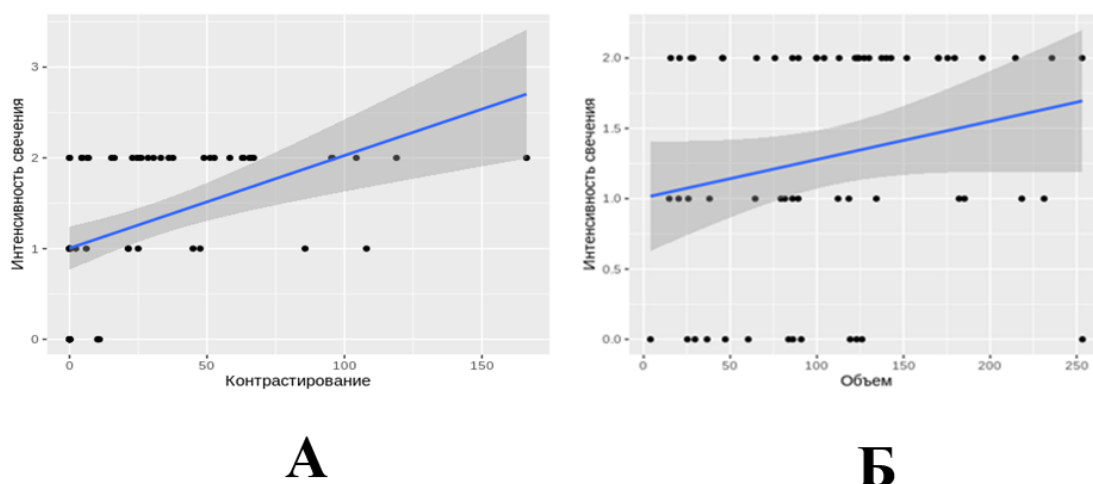


Рисунок 24 - Связь интенсивности флуоресценции с объемом контрастируемой части глиомы (А) и неконтрастируемой части глиомы (Б).

Таким образом, объем контрастирующейся части опухоли значительно влияет на флуоресцентный эффект во время операции. Ниже приведены средние значения контрастируемой части флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом, данные отличия были статистически значимы, (тест Манна-Уитни, $p = 0.009$ для факта свечения и $p = 9.299790610^{-5}$) для интенсивности свечения (Таблица 14).

Таблица 14 - Средние объемы контрастируемой части флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом.

Факт свечения	N	Средний объем	Медиана	Минимум	Максимум
нет	13	2.4 ± 4.6	0	0	10,9
есть	48	37.5 ± 38.3	25,7	0	166

Ниже приведены средние объемы контрастируемой части слабо и яркофлуоресцирующих глиом (Таблица 15).

Таблица 15 - Средние объемы контрастируемой части слабо и яркофлуоресцирующих глиом.

Степень свечения	N	Средний объем	Медиана	Минимум	Максимум
слабое	16	22.6 ± 33.3	4,17	0	108
яркое	32	45 ± 39	34,6	0	166

Таким образом, флуоресцирующие глиомы имели достоверно больший объем контрастирующейся части, чем нефлуоресцирующие (Рисунок 25).

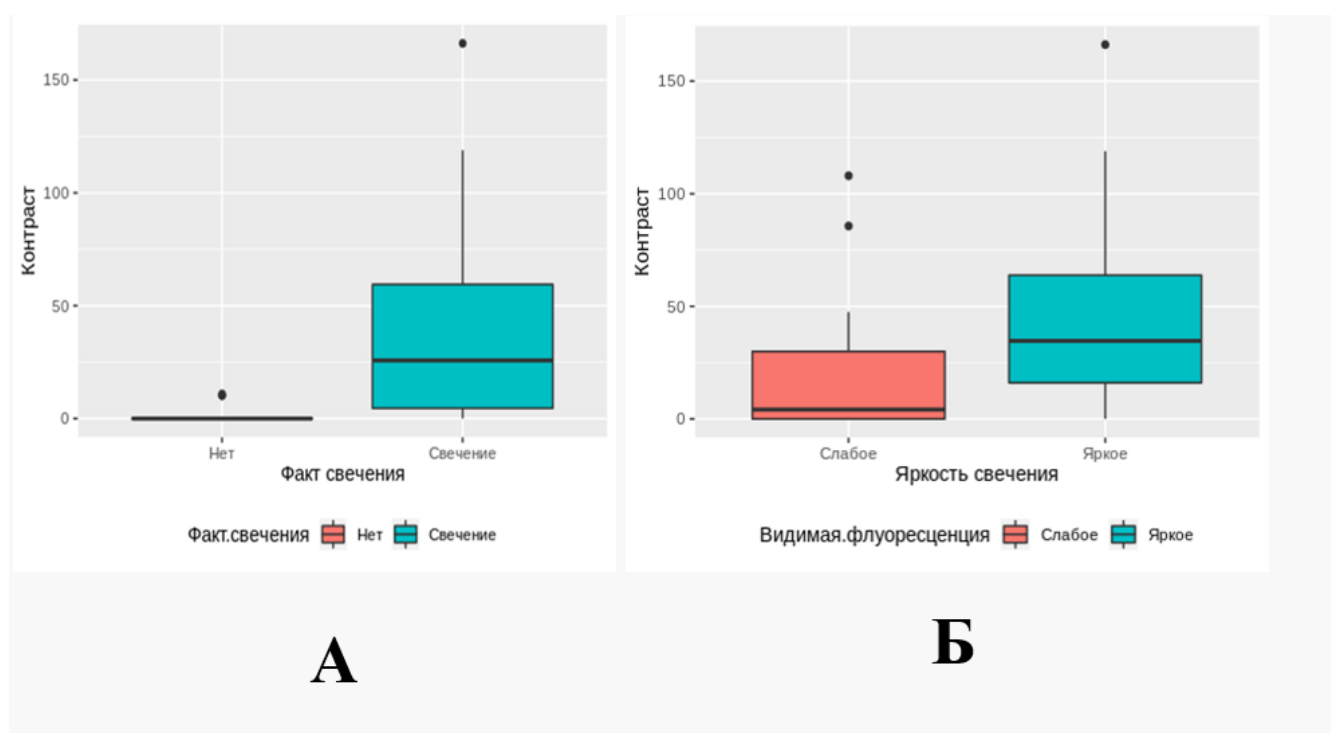


Рисунок 25 - Флуоресцирующие опухоли имели достоверно больший объем контрастирующейся части до операции, чем нефлуоресцирующие (А). Опухоли с ярким свечением имели достоверно больший размер контрастируемой части, чем со слабым свечением (Б). Использована оценка МРТ в режиме SPGR (с контрастом) до операции.

В результате выявлена достоверная связь между фактом свечения опухоли и объемом ее контрастирующейся части. Таким образом, флуоресцирующие глиомы имели достоверно больший объем контрастирующейся части, чем

нефлуоресцирующие (рис. 25).

Мы провели дополнительный сравнительный анализ контрастирования и флуоресценции. Из 16 неконтрастируемых, по данным МРТ, глиом флуоресценция отмечалась у 8 пациентов (в 50%): в подавляющем числе случаев - слабая (6 человек: 5 диффузных астроцитом и 1 анапластическая астроцитома), а в 2 случаях – яркое свечение (1 анапластическая астроцитома и 1 глиобластома). Из 46 контрастирующихся, по данным МРТ, глиом не флуоресцировали 4 опухоли: 2 глиобластомы, 1 анапластическая астроцитома и 1 диффузная астроцитома.

4.3 Влияние показателей кровотока в опухоли (по данным бесконтрастной ASL перфузии) на флуоресцентный эффект

В группе доброкачественных глиом (Grade II) в целом отсутствие свечения наблюдается до 53,6% наблюдений и значительно варьирует в зависимости от гистологии глиомы, доходя до максимума у диффузных астроцитом (75%). Эти данные являются основанием для разработки метода прогнозирования флуоресцентного эффекта до оперативного вмешательства. С этой целью нами была использована методика бесконтрастной ASL перфузии. Сравнение показателей количественной бесконтрастной ASL перфузии и интраоперационной флуоресценции выполнено у 66 пациентов с супратенториальными глиомами головного мозга. Преобладали пациенты с глиомами высокой степени злокачественности (50/66). При этом нефлуоресцирующих глиом было значительно меньше, чем флуоресцирующих (14/52). Все пациентам до оперативного вмешательства выполнено картирование кровотока с помощью метода ASL перфузии с последующей детекцией флуоресцентного эффекта во время резекции опухоли с использованием микроскопа, оснащенного флуоресцентным модулем (Таблица 16).

Таблица 16 - Распределение глиом по степени злокачественности и наличию интраоперационной флуоресценции.

	Grade II	Grade III-IV	Всего
Нефлуоресцирующие глиомы	7	7	14
Флуоресцирующие глиомы	9	43	52
ИТОГО:	16	50	66

Ниже приводятся данные о показателях кровотока в исследуемой группе пациентов (Таблица 17).

Таблица 17 - Максимальные и нормализованные максимальные значения кровотока в группах флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом.

Наличие интраоперационной флуоресценции	Среднее максимальное значение кровотока в опухолях (ТВФ) мл/100г/мин	Стандартное отклонение	Среднее нормализованное максимальное значение кровотока (nТВФ)	Стандартное отклонение
Нефлуоресцирующие глиомы	89,94	95,94	4,65	4,85
Флуоресцирующие глиомы	164,44	111,67	9,18	6,75

При подсчете количественных показателей кровотока n ТВФ max был достоверно выше ($p < 0,05$) во флуоресцирующих глиомах по сравнению с нефлуоресцирующими (164,44 vs 89,94, $p < 0,05$), при высокой чувствительности и специфичности метода перфузии (73,1 % и 76,9% соответственно) (Рисунок 26).

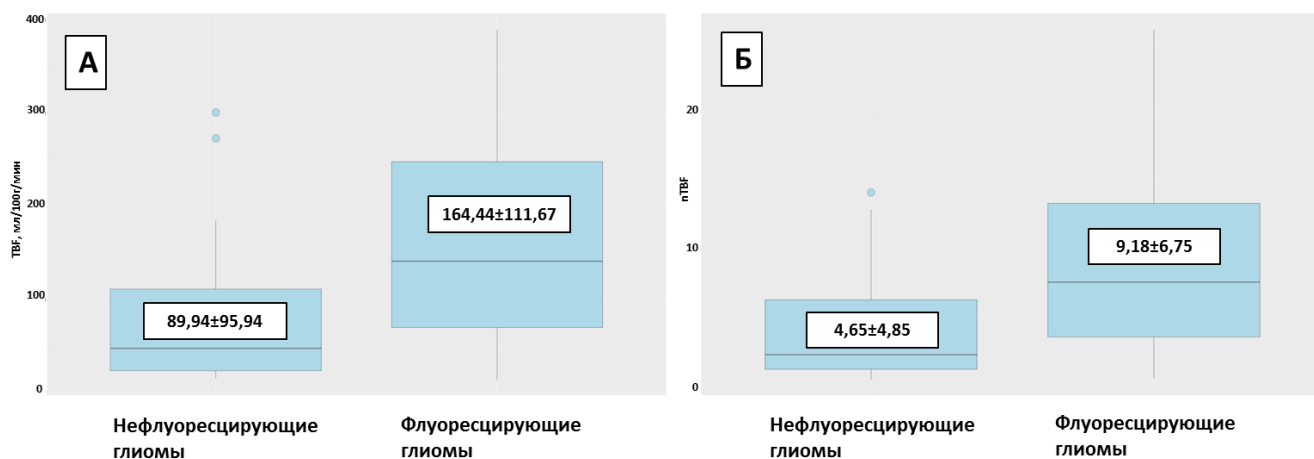


Рисунок 26 - Диаграмма размаха, демонстрирующая кровотоки в группах флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом при использовании значений максимального опухолевого кровотока (А) и максимального нормализованного опухолевого кровотока (Б).

Пороговое значение максимального опухолевого кровотока составляет 84,8 мл/100г/мин (Рисунок 27).

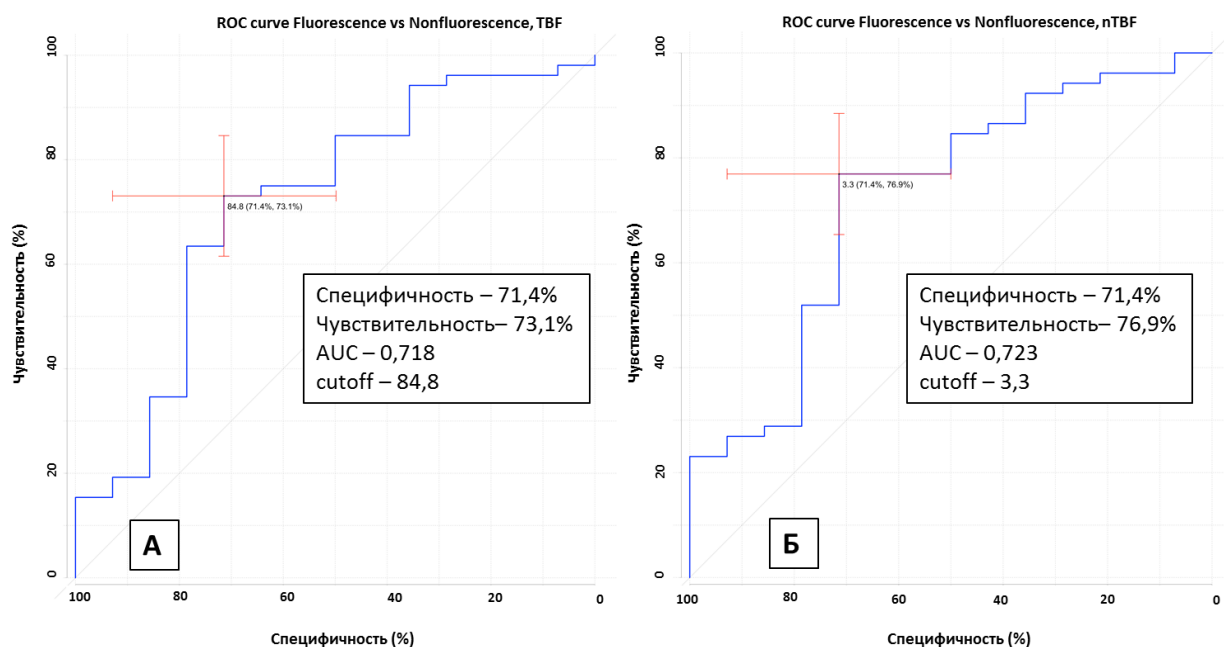


Рисунок 27 - ROC-кривая. Сравнение максимального кровотока (А) и максимального нормализованного кровотока (Б) между флуоресцирующими и нефлуоресцирующими глиомами.

Клиническое наблюдение 6

Ж., 61 год. Жалобы на эпизод нарушения речи (в виде невозможности произнесения слов), приступ самостоятельно прекратился. При проведении МР-исследования в левой лобной доле визуализируется внутримозговое объемное образование с участками некротических изменений в центральных отделах и интенсивным патологическим контрастированием преимущественно в периферических отделах опухоли. ASL-перфузия выявила выраженное повышение опухолевого кровотока (ТВF до 289,7 мл/100г/мин). На основании клинко-рентгенологических данных был поставлен диагноз глиобластома. Проведено удаление опухоли с использованием интраоперационной флуоресцентной диагностики. Интраоперационно опухоль демонстрировала интенсивное свечение, что позволило удалить ее радикально (удалена вся видимая часть опухоли при сопоставлении предоперационного и раннего послеоперационного МР-исследований – режим T2-FLAIR и постконтрастные T1 изображения). Гистологический диагноз: глиобластома NOS (Рисунок 28).

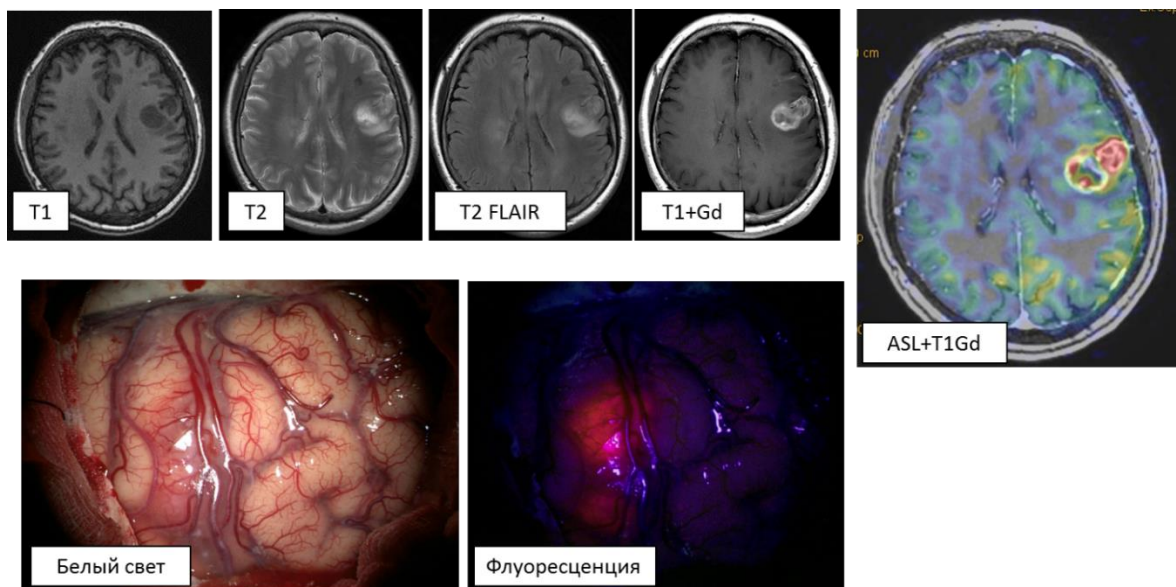


Рисунок 28 – Ж., 61 год, клиническое наблюдение 6. МР-исследование и интраоперационные фотографии пациента с внутримозговым объемным образованием левой лобной доли: ASL-перфузия выявила участки гиперперфузии в строме опухоли: ТВF = 289,7 мл/100г/мин. Во время операции с использованием флуоресцентной диагностики данная опухоль демонстрировала интенсивное свечение.

Клиническое наблюдение 7

Ж., 32 года. Месяц назад развился единичный генерализованный эпилептический приступ в связи с чем было выполнено МР-исследование. При проведении МРТ головного мозга в правой лобной доле определяется внутримозговое объемное образование, гиперинтенсивное в режимах T2 и T2-FLAIR, гипоинтенсивное в режиме T1. После в/в введения контрастного вещества визуализируются точечные участки его патологического накопления в строме опухоли. ASL-перфузия демонстрирует низкие показатели опухолевого кровотока (TBF до 58,51 мл/100г/мин). На основании клинико-рентгенологических данных был поставлен диагноз глиома высокой степени злокачественности (Рис). Проведено удаление опухоли с использованием интраоперационной флуоресцентной диагностики. Интраоперационно опухоль демонстрировала слабое фокусное свечение, которого недостаточно для определения границ опухоли. Гистологический диагноз: Олигодендроглиома с участком анаплазии WHO grade III и с положительной ИГХ экспрессией IDH 1 (R132H) - (Рисунок 29).

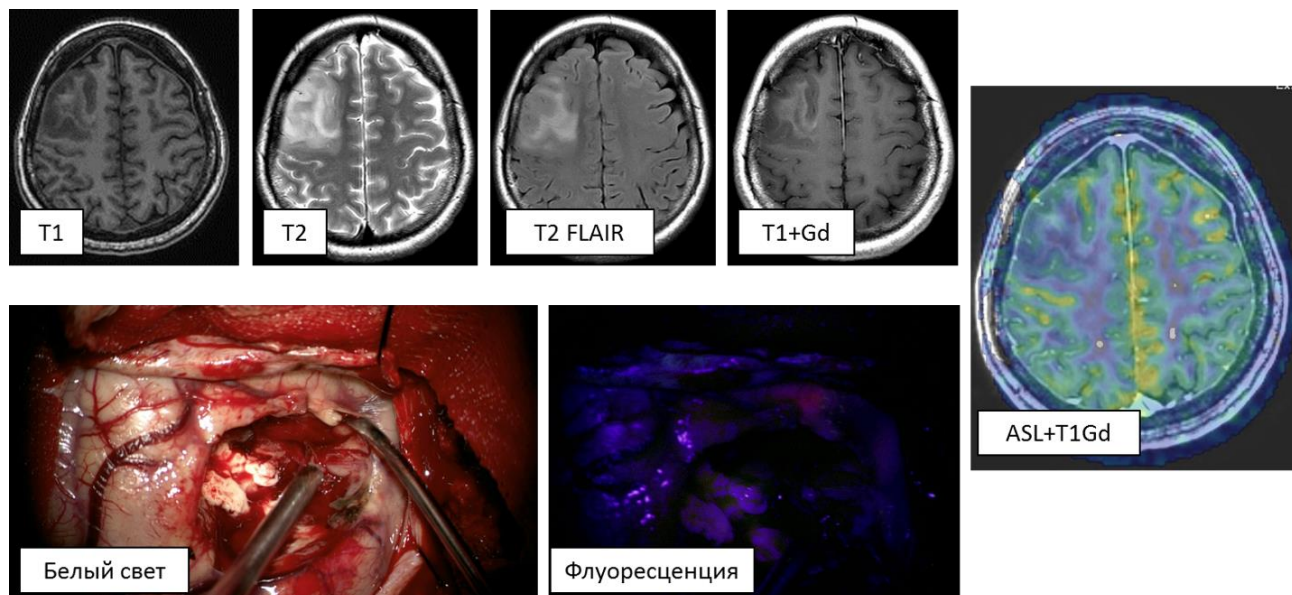


Рисунок 29 - Клиническое наблюдение 7. МР-исследование пациента с объемным образованием правой лобной доли. ASL-перфузия не выявила участков повышения кровотока в строме опухоли: TBF = 58,51 мл/100г/мин. Во время операции с использованием флуоресцентной диагностики в опухолевом объеме визуализировался точечный участок свечения, что недостаточно для определения границ опухоли.

Таким образом, метод бесконтрастной ASL перфузии позволяет до операции надежно прогнозировать флуоресцирующих эффект глиомы с высокой точностью (чувствительность и специфичность составляет 73,1% и 76,9% соответственно).

4.4 Влияние индекса накопления на ПЭТ до операции на флуоресцентный эффект

Для изучения связи индекса накопления метионина, по данным ПЭТ до операции, и интенсивности флуоресценции во время удаления опухоли исследовано 20 пациентов с глиомами различной степени злокачественности. Показатели индекс накопления (ИН) метионина по данным ПЭТ до операции варьировали от 1 до 4; видимая флуоресценция (ВФ): 0 – отсутствует, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – яркая (Таблица 18).

Таблица 18. Связь предоперационной ПЭТ головного мозга с метионином и интраоперационной метаболической навигации.

№	Grade	Гистология	локализация	ИН	ВФ
1	III	Анапластическая астроцитома	Левая затылочная	3,4	2
2	III	Анапластическая астроцитома	Левая височная	2,38	1
3	II	Диффузная астроцитома	Правая лобная	1,14	0
4	II	Олигодендроглиома	Правая лобная	1,5	0
5	II	Олигоастроцитома	Левая лобная	1	0
6	4	глиобластома	Правая височная	1,56	0
7	IV	Анапластическая астроцитома	Левая височная	2,58	3
8	II	Гемистоцитарная астроцитома	Левая лобно-височная	2,7	1
9	IV	глиобластома	Правая височная	3,99	2
10	IV	глиобластома	Левая лобная	2,31	1
11	IV	глиобластома	Левая теменная	2,3	3
12	II	Гемистоцитарная астроцитома	Левая лобная	2,21	3
13	III	Анапластическая астроцитома	Левая теменная	2,56	2
14	II	Диффузная астроцитома	Правая лобная	1,2	0
15	IV	глиобластома	правая височная	4	3
16	IV	глиобластома	Левая лобно-теменная	3,5	3
17	IV	глиобластома	Правая височно-затылочная	3,3	2
18	III	Анапластическая олигодендроглиома	Левая височно-теменная	3,2	3
19	II	Диффузная астроцитома	Левая лобная	1,2	0
20	III	Анапластическая астроцитома	Левая теменно-височная	2,6	2

В результате между индексом накопления по данным ПЭТ с метионином и

интенсивностью флуоресценции опухоли установлена значимая взаимосвязь, (анализ по Спирмену, $p = 0,005$, коэффициент корреляции составил $0,682$) - (Рисунок 30).

По результатам анализа оптимальным порогом для прогнозирования появления свечения является исходный уровень индекса накопления $2,21$. При использовании этого значения чувствительность прогноза составляет 100% , специфичность - 100% , точность - 100% . Площадь под ROC-кривой равна 1 . Индексы накопления флуоресцирующих глиом были значимо выше, чем нефлуоресцирующих.

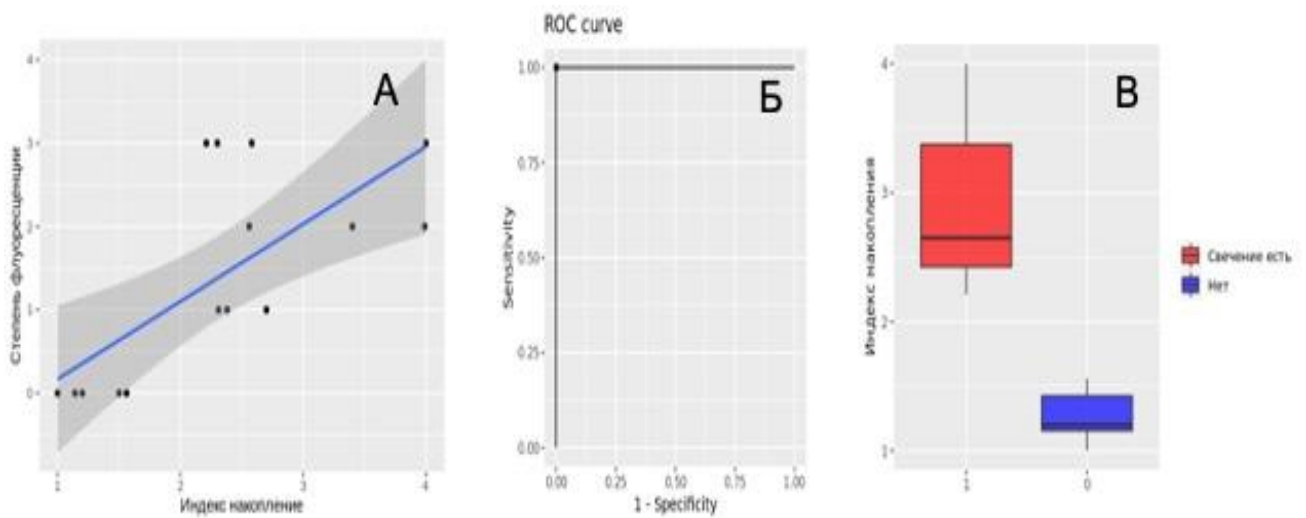


Рисунок 30 - Взаимосвязь индекса накопления метионина по данным ПЭТ и свечение опухоли во время операции (А); ROC анализ (Б); индексы накопления флуоресцирующих глиом (В)

Таким образом, установлена значимая взаимосвязь между величиной индекса накопления метионина (пороговое значение $2,21$), по данным ПЭТ до операции, и выраженностью флуоресцентного эффекта во время нее – индекс накопления метионина до операции может рассматриваться как предиктор эффективности использования 5 АЛК в хирургии глиом головного мозга.

4.5 Взаимосвязь наличия кист в глиомах и флуоресцентного эффекта

Данные о наличии кист и факте свечения доступны для 63 пациентов, из них у 32 пациентов отмечалось наличие кист. Среди глиом с кистами у 27 пациентов (84%) отмечалось свечение. Среди 31 пациента с отсутствием кист в опухоли свечение отмечено только у 26 больных (83,9%). При анализе факта свечения и наличия кист в глиомах полученная взаимосвязь статистически не значима ($p = 0,0079609$). При анализе аналогичного расчета между наличием кист в опухоли и степенью флуоресценции значимой связи не выявлено ($p > 0.05$).

4.6 Связь мутации IDH 1 и флуоресцентного эффекта

Исследована связь мутации IDH 1 и факта свечения глиом у пациентов с опухолями Grade III-IV у 37 пациентов (Таблица 19).

Таблица 19 - Связь статуса мутации IDH 1 и факта свечения глиом Grade III-IV.

Число пациентов	IDH 1 (-)	IDH 1 (+)
n	18	19
Свечение (%)	17 (94.4%)	9 (47.4%)

При анализе с помощью метода Фишера установлена значимая связь между признаками ($p = 0.003$), которая сохранялась и при анализе со степенью флуоресценции ($p = 4.734891810^{-5}$). Таким образом, IDH 1 (-) глиомы Grade III-IV светились достоверно чаще и ярче, чем IDH 1 (+) (Рисунок 31).

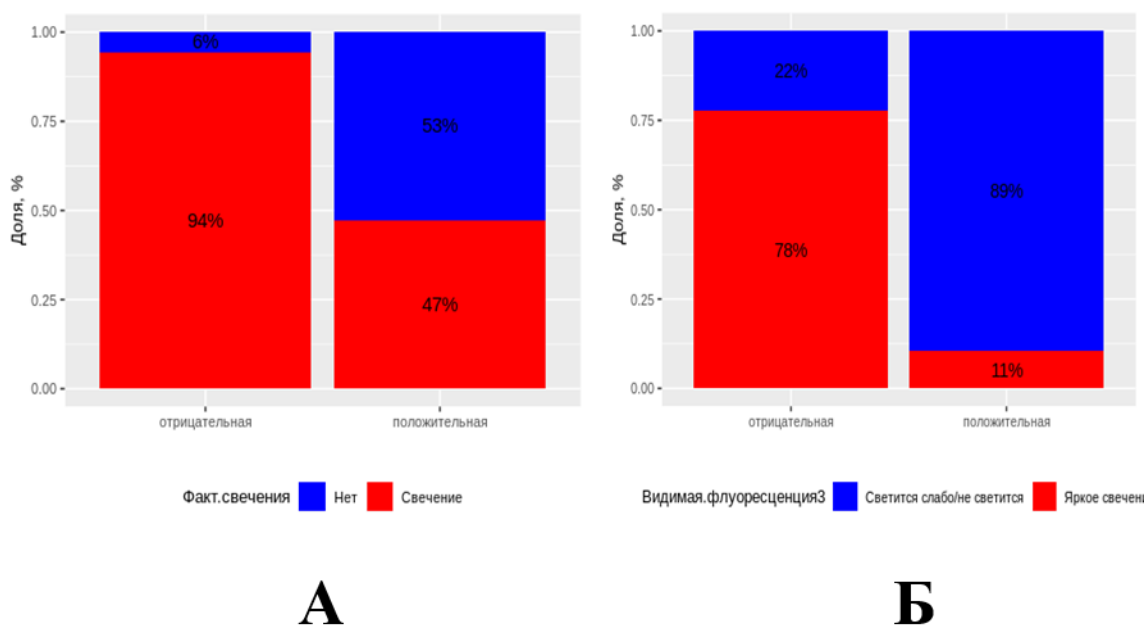


Рисунок 31 - Связь статуса мутации IDH 1 и факта свечения глиом Grade III-IV (А) и статуса мутации IDH 1 и степени свечения глиом Grade II-IV (Б).

Резюме главы 4

Прием противосудорожных препаратов у пациентов с диффузными глиомами достоверно снижает вероятность флуоресцентного эффекта во время оперативного вмешательства. Факт наличия эпилептического синдрома у пациентов с глиомами головного мозга не влияет на флуоресцентный эффект.

Объем контрастирующейся части глиом, по данным МРТ, является надежным предиктором их флуоресценции во время оперативного вмешательства (как факта свечения, так и его интенсивности), при этом флуоресцирующие глиомы имеют достоверно больший объем контрастирующейся части, чем нефлуоресцирующие. Объем неконтрастирующейся по данным МРТ части глиомы (в режиме T2-FLAIR) достоверно не влияет на флуоресцентный эффект во время операции, однако данная связь находится на границе статистической значимости. Это можно объяснить тем, что флуоресценция глиом высокой степени злокачественности выходит за зону контрастирования и захватывает неконтрастную часть опухоли за счет инфильтрации [380-381 и 112-114].

Применение бесконтрастной ASL перфузии до операции позволяет надежно (чувствительность 73,9%, специфичность 72,7%) прогнозировать отсутствие или наличие флуоресцентного эффекта во время хирургического вмешательства. Пороговое значение максимального опухолевого кровотока составляет 84,8 мл/100г/мин. Этот факт имеет важное значение при планировании оперативных вмешательств с использованием флуоресценции.

Индекс накопления метионина до операции, по данным ПЭТ головного мозга с метионином, значимо коррелирует с интенсивностью свечения опухоли во время оперативного вмешательства.

Наличие или отсутствие кист в структуре глиом достоверно не влияет на флуоресцентный эффект.

Таким образом, при анализе факторов, влияющих на свечение опухоли, установлено, что клинические данные (прием противосудорожных препаратов при диффузных глиомах), нейровизуализационные параметры (объем контрастирующейся части глиомы по данным предоперационной МРТ, показатели кровотока по данным ASL перфузии и индекс накопления метионина по данным ПЭТ), патоморфологические параметры (IDH-1 мутация) – оказывают значимое влияние на флуоресцентный эффект во время оперативного вмешательства у пациентов с глиомами головного мозга.

Глава 5 Клинические, нейровизуализационные и патоморфологические предикторы эффективности метаболитической навигации в хирургии глиом головного мозга различной степени злокачественности

5.1 Выявление анапластических фокусов в глиомах Grade I-III

Методика отбора биоптатов

В данную часть работы взято 27 пациентов (19 мужчин и 8 женщин). Медиана возраста составила 33 года (18-66 лет). В серию включены пациенты с глиомами Grade I-III, которым во время операции проводились множественные биопсии, в каждой из которых определялся индекс Ki 67 (54 биоптата). При наличии флуоресценции 1 биоптат брался из зоны свечения (флуоропозитивная часть опухоли), второй – из зоны опухоли без флуоресценции (флуоронегативная часть опухоли).

В 6 биоптатах опухоли не было, в 48 выявлены опухолевые клетки. Из них 12 биоптатов были взяты из флуоресцирующих зон опухоли, 36 – из нефлуоресцирующих зон. В 7 светящихся биоптатах у 7 пациентов выявлены зоны анаплазии, при этом индекс пролиферативной активности Ki 67 был более 5%, что соответствовало опухоли Grade III. Остальные 41 биоптат (5 светящихся и 36 несветящихся) у 17 пациентов соответствовали Grade II глиомам.

В данную серию входили: 6 диффузных астроцитом, 2 олигодендроглиомы, 4 пилоидных астроцитомы, 2 гемистоцитарных, 1 ганглиоглиома, олигоастроцитомы - 4 - (19 опухолей Grade I-II). Среди опухолей Grade III в серию включены анапластические олигоастроцитомы - 4, анапластические

олигодендроглиомы - 1, анапластические астроцитомы – 2 (7 случаев) - (Приложение Д).

Видимая флуоресценция наблюдалась у 16/27 (59%) пациентов, из них флуоресцировали 7 опухолей Grade III с фокусным типом свечения (26%), 9 опухолей Grade I-II (из них 4 пилоидные астроцитомы, гемистоцитарные астроцитомы – 2, десмопластическая инфантильная ганглиоглиома – 1, диффузная астроцитома – 2). Из глиом низкой степени злокачественности фокусное свечение отмечалось у 5 пациентов, диффузное – у 4 (Рисунок 32).

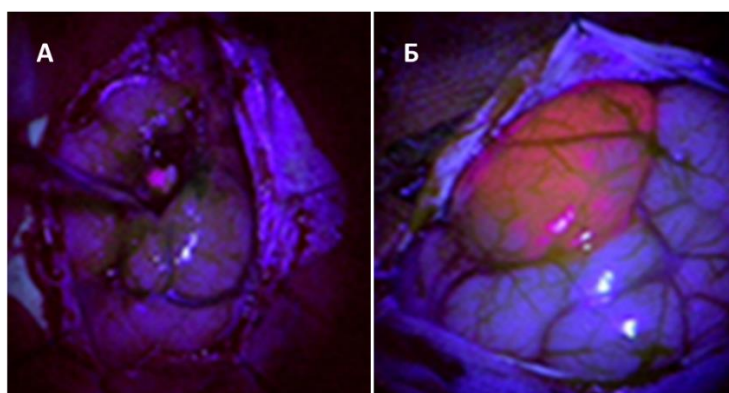


Рисунок 32 - Примеры различных типов свечения в доброкачественных глиомах: фокусный тип (А), диффузный тип (Б).

При фокусном свечении у 7 пациентов в фокусах свечения были выявлены зоны анаплазии, таким образом диагноз глиомы Grade II был трансформирован в Grade III. Ниже приводятся некоторые клинические примеры этих наблюдений. На основании данного исследования с выполнением множественных биопсий в хирургии глиом Grade II-III с применением метаболической навигации возможны следующие варианты (Таблица 20).

Таблица 20 - Варианты флуоресценции и данных патоморфологического исследования во флуоресцирующих и нефлуоресцирующих фрагментах глиом Grade II-III с использованием метода множественных биопсий.

Тип свечения	Гистология в флуоресцирующей части опухоли	Гистология в нефлуоресцирующей части опухоли	Общая гистология	%
Фокусный тип 1	Grade II	Grade II	Grade II	5/27 (18,5%)
Фокусный тип 2	Grade III	Grade II	Grade III	7/27 25,9%
Диффузный тип 1	Grade II	Grade II	Grade II	4/27 (14,8%)
Диффузный тип 2	Grade III	-	Grade III	Не входили в данную выборку*
Несветящаяся глиома тип 1	-	Grade II	Grade II	11/27 (40,7%)
Несветящаяся глиома тип 2	-	Grade III	Grade III	Не входили в данную выборку* *
ИТОГО: 27				

*примечание – флуоресценция анапластических глиом встречается в общей выборке в 65% случаев и при наличии контрастирования на МРТ почти всегда носит диффузный характер (рассмотрено в главе 3).

** примечание – отсутствие флуоресценции в анапластических глиомах встречается в 35% наблюдений (рассмотрено в главе 3).

Клиническое наблюдение 8

Ж., 34 года, внутримозговая опухоль правой теменной доли с прорастанием в глубинные структуры (мозолистое тело, боковой желудочек, подкорковые ганглии). Основная часть опухоли – Grade II, которая не флуоресцировала во время операции. Однако, в процессе резекции выявлен небольшой фокус яркого свечения (рис), при гистологическом исследовании в этой зоне опухоль Grade III, анапластическая астроцитома IDH 1 (+) (Рисунок 33).

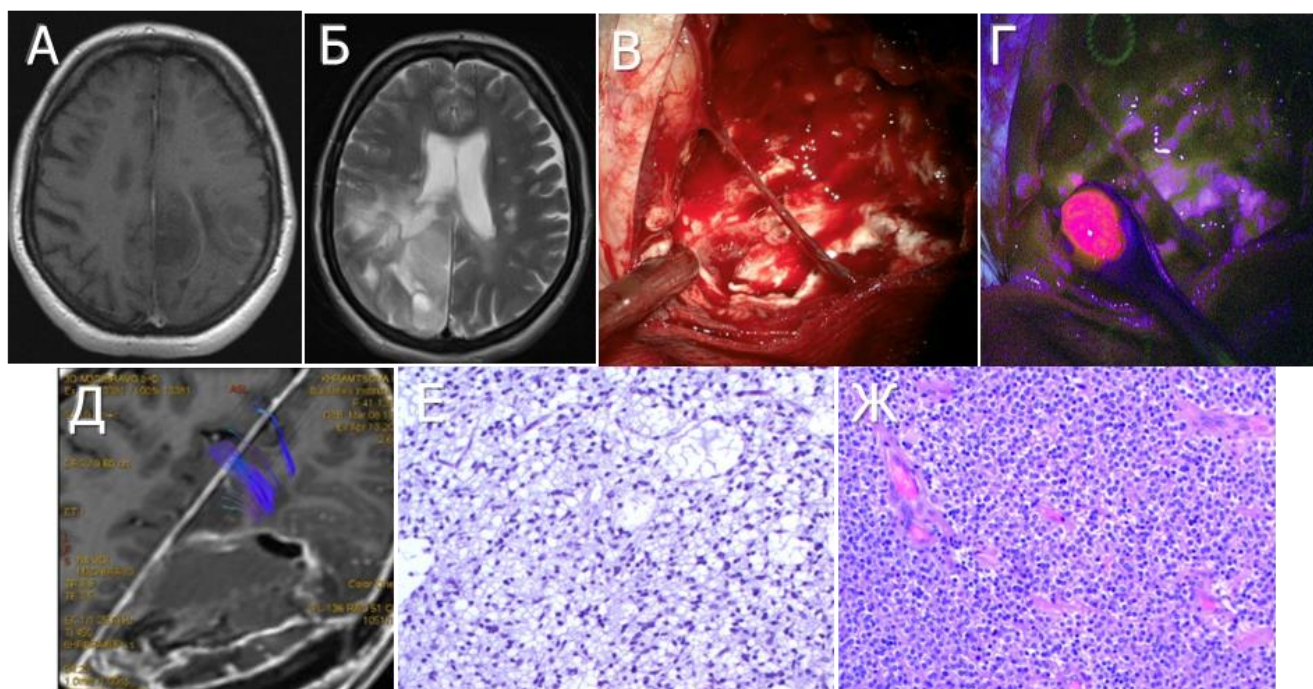


Рисунок 33 - Ж., 34 лет, клиническое наблюдение 8. Пример фокусного свечения у пациента с анапластической астроцитомой Grade III. Взята биопсия из светящейся части глиомы (Grade III). Основная часть опухоли не флуоресцировала (Grade II). А: дооперационные МРТ в Т1 режиме с контрастированием (аксиальный срез), Б: в Т2 режиме (аксиальный срез), В: интраоперационные фотографии, выполненные в белом свете, Г: интраоперационные фотографии, выполненные флуоресцентном режимах. Отмечается яркое свечение одной зоны опухоли при отсутствии флуоресценции в остальной ее части. Д: послеоперационная МРТ в Т1 режиме с контрастным усилением. Е: морфологическое исследование биоптата, взятого из основной нефлуоресцирующей части опухоли (участок Grade II), Ж: справа - морфологическое исследование биоптата, взятого из небольшой флуоресцирующей части опухоли (участок Grade III).

Клиническое наблюдение 9

М., 62 лет. Фокусная флуоресценция у пациента с анапластической олигодендроглиомой (Grade III) (Рисунок 34). Основная часть опухоли являлась нефлуоресцирующей (Grade II часть), однако в процессе резекции выявлен небольшой фокус слабого свечения опухоли, из которого взята дополнительная биопсия (Grade III). Описание операции: ЭТН. Положение лежа на спине, голова приведена к груди, головной конец кровати приподнят. Голова фиксирована в скобе Mefield-Kees. Местная анестезия р-ром наропина (10 мг/мл 10 мл). Линейный разрез кожи и мягких тканей до кости. Кости черепа скелетированы, края раны разведены с помощью Егоровского ранорасширителя. Наложено 2 трепанационных отверстия. Выполнена костно-пластическая трепанация. ТМО была широкого подпаяна ко внутренней поверхности кости на всем протяжении. В ходе трепанации сформировано несколько дуротомических отверстий. После того как была поднят костный лоскут отмечался эпизод воздушной эмболии с падением рСО₂ до 23. Головной конец опущен, развилось обильное венозное кровотечение, источник обнаружен, ликвидирован. После стабилизации состояние оперативное вмешательство продолжено. ТМО вскрыта подковообразным разрезом, основанием к ВСС. Арахноидальная оболочка видимо изменена (мутная, белесоватого оттенка). Проведено УЗИ в пределах костного окна, установлены границы опухоли. Проведена биполярная стимуляция в пределах костного окна (в зонах, трактованных как первичная моторная кора, моторные ответы не получены). При флуоресценции розового свечения в пределах коры также не выявлено. После предварительной биполярной коагуляции начато удаление опухоли. Опухоль относительно плотной консистенции, удалялась с помощью ультразвукового деструктора, вакуумного аспиратора и кускованием. При удалении на вакуумный аспиратор одета петля для монополярной стимуляции. ПО передней стенки ложа опухоли получены моторные ответы как при моно- так и при биполярной стимуляции. Кзади опухоль удалена в пределах видимо неизменной мозговой ткани, латерально и медиально опухоль также удалена в пределах видимо неизменной мозговой ткани, кпереди в пределах центральной борозды. В

передних отделах опухоли отмечался фокус бледно розового свечения (удален). Тщательный гемостаз раны. В ходе гемостаза отмечен второй эпизод воздушной эмболии (падение pCO_2 до 19) в следствие отрыва переходящих мостиковых вен. Кровотечение остановлено большим объемом Тахокомба. Пластика ТМО искусственной ТМО (7,5x7,5 см, эскулап), дополнительно укреплена клеевой композицией ИВИСЕЛ. Костный лоскут уложен на место, фиксирован узловыми швами. Остатки ТМО частично также подшиты к кости. Тщательный гемостаз, рана ушита послойно, наглухо. Ас. повязка. По данным срочного гистологического исследования - злокачественная глиома III-IV.

Подробное описание патоморфологического исследования: в препарате визуализируется злокачественная опухоль. Выявляется выраженный клеточный полиморфизм, определяются преимущественно неправильной формы и округлые клетки, в части клеточных элементов обнаруживаются типичные перинуклеарные светлые ободки. Характерно присутствие достаточно обширных участков с наличием мелких клеток со слабо выраженной цитоплазмой. Наблюдается умеренный полиморфизм ядер, выявляются ядра округлой и овальной формы, но встречаются и дисморфные нуклеарные элементы неправильной формы, мелких и средних размеров, определяется выраженная анизохромия при окраске, преобладают ядра с повышенной интенсивностью окраски хроматина. В ткани выявляется типичный сплошной характер роста, определяются участки с характерной монотонностью в расположении клеточных, сосудистых и стромальных элементов в ткани. Визуализируется умеренное количество митотических фигур. Очаги некрозов не обнаружены. Очаги пролиферации эндотелия сосудов не выявлены. Иммуногистохимическое исследование - в ткани опухоли методом иммуногистохимического исследования выявлена положительная экспрессия в опухоли продукта мутировавшего гена IDH1 2-гидроксиглутарата, ИМ Ki-67 фокально до 12%. Молекулярно-генетическое исследование: методом флуоресцентной гибридизации in situ выявлена кооперативная делеция 1p19q. Морфологическое заключение заключение: анапластическая олигодендроглиома, IDH1-мутантная, WHO Grade

III. Методом флуоресцентной гибридизации *in situ* выявлена кооперативная делеция 1p19q.

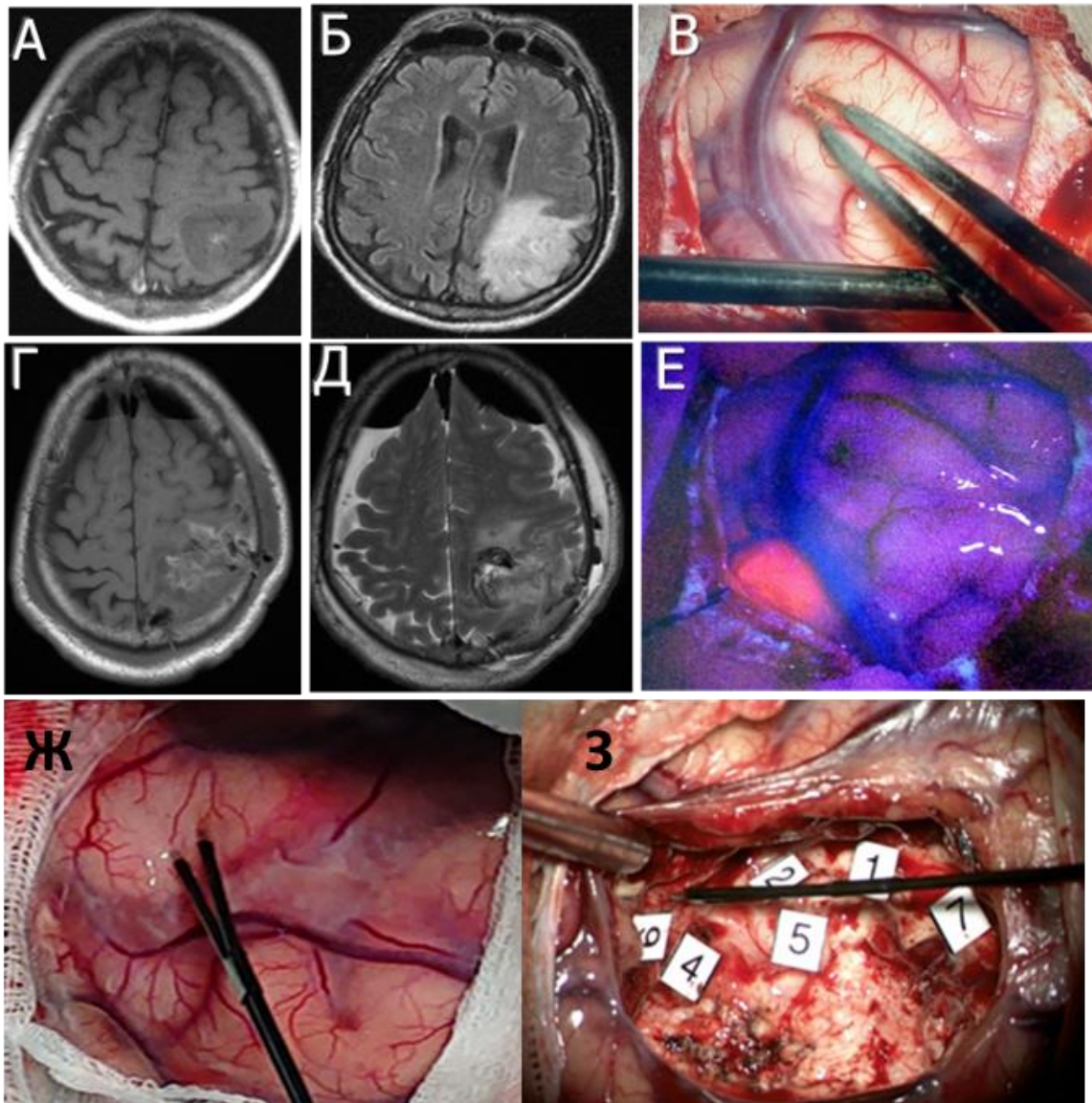


Рисунок 34 - Диагностика у пациента с анапластической астроцитомой левой теменной доли: А – МРТ в T1 режиме аксиальный срез до операции, визуализируется фокусное контрастирование глиомы, Б – МРТ в T2- FLAIR режиме аксиальный срез до операции, визуализируется неоднородный сигнал в опухоли, В – интраоперационная фотография в белом свете с с микроскопа, Г – послеоперационная МРТ в T1 режиме, аксиальный срез, Д - послеоперационная МРТ в T2-FLAIR режиме, аксиальный срез, Е - интраоперационная фотография во флуоресцентном режиме с микроскопа - отмечается яркое свечение опухоли, Ж – начальный этап картирования коры биполярным стимулятором, З – конечный этап картирования коры биполярным стимулятором: маркером обозначены точки при последовательной стимуляции которых моно и биполярным стимуляторами получены моторные ответы от контралатеральных конечностей.

При резекции основной части опухоли ее структура была представлена диффузной глиомой (кроме участка яркого свечения, выходявшего на кору мозга – Grade III). Основная часть опухоли была нефлуоресцирующей (Рисунок 35).

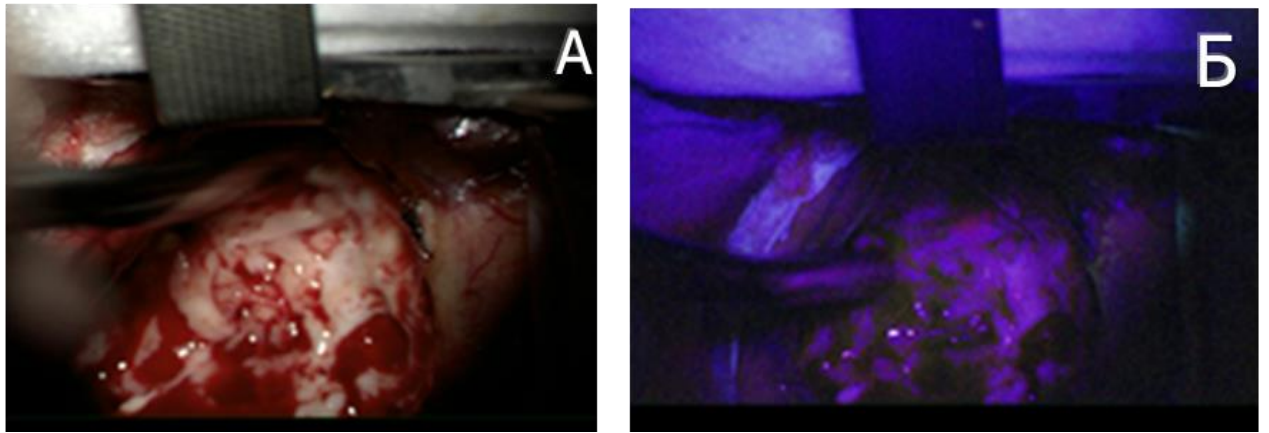


Рисунок 35 - Флуоресценция основной части опухоли отсутствует: вид в белом свете (А) и флуоресцентном режиме микроскопа (Б).

Клиническое наблюдение 10. Ж., 29 лет, правша. Выявление анапластического фокуса в структуре глиомы Grade II-III. Поступила в клинику с однократным генерализованным эпилептическим приступом в анамнезе. При МРТ выявлена больших размеров внутримозговая опухоль левой лобной доли. Оперативное вмешательство выполнено с одномоментным применением метаболической навигации и краниотомии в сознании.

Основная часть опухоли не флуоресцировала, при резекции глубинной части опухоли выявлен анапластический фокус, который имел отчетливое свечение. Из данной зоны взята прицельная биопсия (результат: анапластическая астроцитома, IDH 1 (+)). После удаления фокуса свечения остальная часть опухоли не флуоресцировала. При резекции заднего полюса опухоли в ходе биполярной электрической стимуляции получены речевые нарушения от длинных ассоциативных трактов – аркуатного и лобного косоугольного пучков (Рисунок 36).

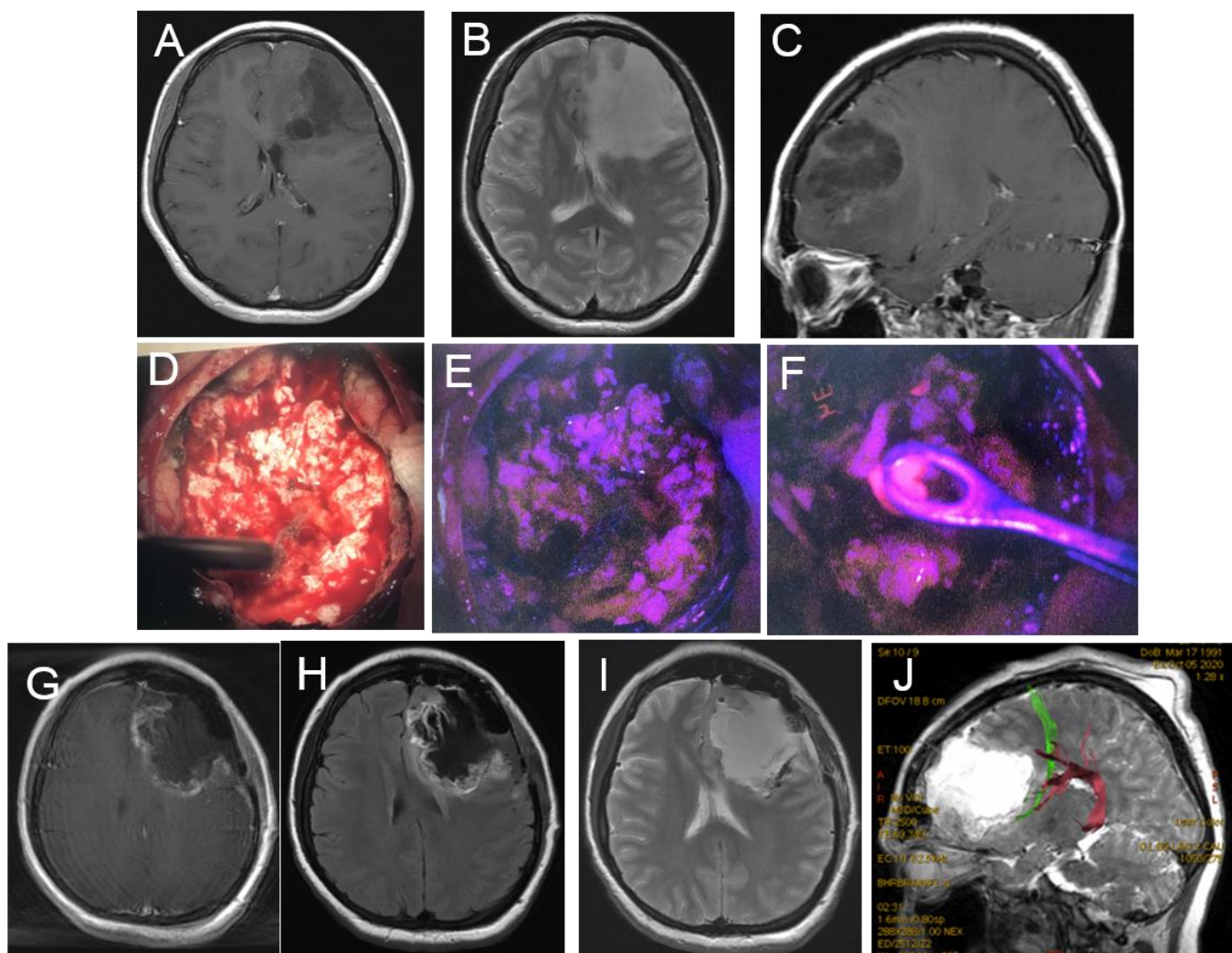


Рисунок 36 - Ж., 29 лет, клиническое наблюдение 10: детекция анапластического фокуса в структуре неконтрастирующейся по данным МРТ глиомы. А: дооперационная МРТ, аксиальный срез, T1 режим с контрастом, В – дооперационная МРТ, T2 режим, аксиальный срез, С – дооперационная МРТ, сагиттальный срез с контрастом. D – интраоперационная фотография в микроскопе в белом свете E – интраоперационная фотография в микроскопе во флуоресцентном режиме, отмечается слабо-розовое свечение основной массы опухолевой ткани F - интраоперационная фотография в микроскопе во флуоресцентном режиме, детекция анапластического фокуса глиомы - отмечается яркое свечение анапластического участка опухоли G – послеоперационная МРТ с контрастированием, аксиальный срез в T1 режиме H - послеоперационная МРТ с контрастированием, аксиальный срез в T2 FLAIR режиме I - послеоперационная МРТ в T2 режиме, аксиальный срез, J – послеоперационная МРТ трактография, сагиттальный срез, зеленый цвет – лобный косой пучок (ФАТ), багровый цвет – передний сегмент аркуатного тракта. Оба пучка вблизи заднего контура послеоперационной полости.

Таким образом, при использовании метаболической навигации с 5-АЛК свечение отмечается в наиболее злокачественной части глиомы, что позволяет выполнить прицельную биопсию в анапластических фокусах опухолей, а также удалить наиболее агрессивную часть глиомы. Применение метаболической навигации позволило в 7 из 27 случаев (25,9%) при выполнении множественных биопсий и забора биоптатов из флуоресцирующей и нефлуоресцирующей частей опухоли при прицельной биопсии из зоны свечения выявить анапластический фокус и поставить диагноз глиомы Grade III. При этом основная часть опухоли не флуоресцировала и являлась глиомой Grade II.

5.2 Гистологическое исследование флуоресцирующих и нефлуоресцирующих биоптатов глиом Grade II-III с определением индекса Ki-67 и плотности ядер клеток

У 16 пациентов с флуоресцирующими фокусами глиом Grade II-III нами исследованы биопсии из светящихся и несветящихся участков опухоли (32 биоптата). Во всех исследуемых биоптатах идентифицированы опухолевые клетки. В каждом биоптате был отдельно подсчитан пролиферативный индекс Ki-67 и плотность ядер клеток (Таблица 21).

Таблица 21 - Пролиферативный индекс Ki-67 и плотность ядер клеток в светящихся и несветящихся участках глиом Grade II-III (16 наблюдений, 32 биоптата).

Свечение биоптата	Число биоптатов	Пролиферативный индекс	Плотность ядер клеток	p
Свечение есть	16	7,41+/- 2,2 %;	2180 +/- 920 mm ²	p =0,04
Свечения нет	16	2,52+/- 1,1 %	1510 +/- 630 mm ²	p = 0,03

Плотность ядер клеток была достоверно выше в зоне свечения опухоли, чем в несветящейся зоне (2180 +/- 920 mm² vs 1510 +/- 630 mm²; r = 0,68, p = 0,03).

Пролиферативный индекс Ki-67 также был значимо выше в зонах свечения опухоли $7,41 \pm 2,2$ vs $2,52 \pm 1,1$ % $r = 0,62$, $p = 0,04$). Таким образом, в фокусах свечения глиом Grade II-III плотность ядер клеток и индекс Ki67 были достоверно выше, чем у пациентов, у которых видимая флуоресценция не наблюдалась.

5.3 Гистологическое исследование флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом Grade II-IV с определением индекса Ki-67

Данные об индексе пролиферативной активности и факте флуоресценции доступны для 59 пациентов с глиомами всех Grade. Как видно из таблицы, при анализе глиом Grade II-IV средние значения индексов пролиферативной активности для флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом были близки. При исследовании отличия в пролиферативном индексе Ki 67 между флуоресцирующими и нефлуоресцирующими глиомами всех Grade (II-IV) мы не выявили достоверных отличий ($p > 0.05$) - (Таблица 22).

Таблица 22. Средние значения индекса Ki 67 у пациентов с флуоресцирующими и нефлуоресцирующими глиомами.

Факт свечения	Общее число	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум
Не светится	21	11.4 ± 16	7	5	80
светится	38	10 ± 8.7	6.5	2	50

Ниже представлены диаграммы размаха показателей пролиферативного индекса Ki 67 у пациентов с флуоресцирующими и нефлуоресцирующими глиомами (Рисунок 37).

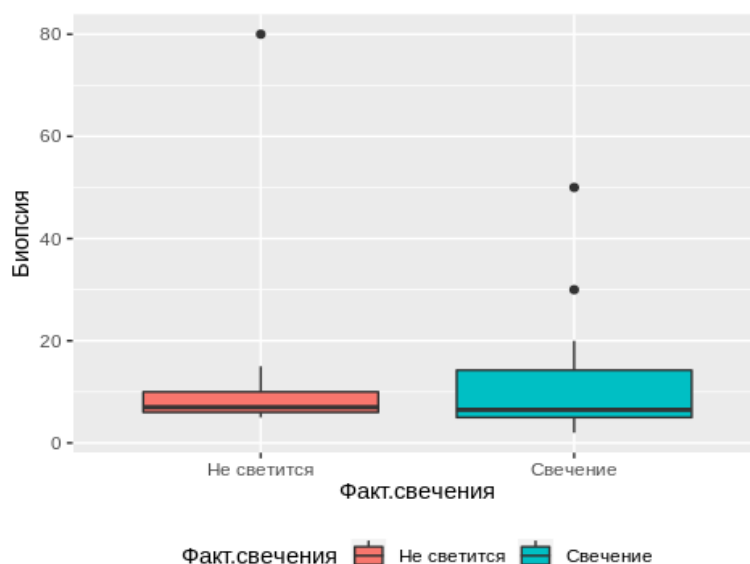


Рисунок 37 - Диаграмма размаха индекса Кi 67 у пациентов с флуоресцирующими и нефлуоресцирующими глиомами.

Для анализа применялся тест Манна-Уитни, различия статистически не значимы ($p = 0.706$). Аналогичные результаты были получены для анализа взаимосвязи индекса пролиферативной активности и интенсивности флуоресценции. Для анализа применялся дисперсионный анализ по Краскелу-Уоллису. Различия также статистически не значимы ($p = 0.9872923$). Таким образом, индекс пролиферативной активности Кi 67 для флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом Grade II-IV значимо не отличался.

В тоже время, по данным Widhalm et al (2013) при исследовании 59 пациентов с глиомами Grade II-III средние значения индекса Кi 67 для нефлуоресцирующих глиом составили $6,9 \pm 5,4$, а для флуоресцирующих - $15,9 \pm 8,4$ (отличия были статистически значимы). Возможно, это связано с высокой частотой отсутствия флуоресценции (35%) при анапластических глиомах в нашей работе (у Widhalm только у 15%), где индекс пролиферативной активности выше 5%, и высокой частотой флуоресценции при глиомах низкой степени злокачественности в нашей серии (46%), при которых индекс Кi 67 менее 5% (у Widhalm только 9%). Кроме этого, возможной причиной отсутствия различий в значениях индекса пролиферативной активности может быть выраженная гетерогенность глиом.

Таким образом, мы выявили значимые отличия в плотности ядер клеток и

индексе пролиферативной активности в флуоропозитивных и флуоронегативных фокусах внутри глиом Grade II-III. У 7/27 пациентов (26%) при множественных биопсиях в фокусе свечения выявлена опухоль Grade III. Флуоропозитивные и флуоронегативные участки в структуре одной и той же доброкачественной глиомы значительно отличаются между собой по показателям пролиферативного индекса и плотности ядер клеток. Это означает, что в зоне свечения доброкачественной или неконтрастирующейся по данным МРТ глиомы Grade II-III целесообразно выполнять прицельную биопсию, поскольку данный участок опухоли имеет больший пролиферативный индекс и плотность ядер клеток, и в ряде случаев может выявить фокус анаплазии в опухоли.

При анализе показателей пролиферативного индекса Ki 67 между флуоресцирующими и нефлуоресцирующими глиомами Grade II-III-IV значимых отличий не выявлено.

5.4 Стереотаксическая биопсия опухолей мозга с использованием метода флуоресцентной диагностики

Далее будут представлены предварительные результаты использования флуоресцентной диагностики в качестве экспресс метода для интраоперационной верификации биоптатов, выполненные на небольшой серии наблюдений. Ниже приводятся клинические данные серии, включающей в себя 19 пациентов с СТБ с оценкой флуоресценции биоптатов с использованием микроскопа с флуоресцентным модулем у 18 человек и 1 – с выполнением стереотаксической спектроскопии. Светящиеся биоптаты в ходе исследования маркировались в отдельной пробирке для последующего патоморфологического исследования. Во всех случаях с наличием флуоресценции выполнен забор, оценка статуса флуоресценции под микроскопом и гистологическое исследование 3 биоптатов от каждого пациента, полученных в ходе СТБ (Таблица 23).

Таблица 23 - Данные о пациентах, оперированных методом стереотаксической биопсии с 5-АЛК.

№	Пол	Возраст	ПЭТ ИН	Локализация опухоли	Свечение	Гистология
1	Ж	40	3.28	Лобно-теменно-височная справа +МТ	слабое	Анапластическая олигодендроглиома
2	М	31	2.2	МТ	слабое	Олигодендроглиома
3	Ж	29	-	Теменно-затылочная слева	Яркое (при повторной)	В-клеточная лимфома, ПОВТОРНАЯ (3 мес)
4	М	42	-	МТ	нет	Дифф. астроцитома
5	М	35		Левая лобная	Яркое (при повторной)	Глиобластома ПОВТОРНАЯ (5 дней)
6	М	67	3.3	Правая затылочная	нет	В-клеточная лимфома
7	М	61	-	Левая лобная	нет	Глиобластома
8	М	59	4.06	Левая лобная	нет	Диффузная астроцитома
9	Ж	77	-	Левая лобная	яркое	Глиобластома
10	М	67	гиперметаболизм	Левая теменная	Спектры повышены	В-клеточная лимфома
11	Ж	57	-	Левая лобно-теменная	нет	Диффузная астроцитома ПОВТОРНАЯ (гипотония в наркозе), интервал 4 дня
12	М	33	-	Левая височная	Первая операция – яркое Вторая операция яркое	Диффузная астроцитома ПОВТОРНАЯ через 14 дней
13	Ж	52	-	Левая теменная, МТ	Яркое свечение	Глиобластома
14	Ж	36	-	Правая лобная и МТ	Яркое свечение	В-клеточная лимфома
15	М	37	2,3	Левая лобная доля и подкорковые ганглии	Умеренное свечение	Анапластическая астроцитома
16	Ж	32	3,4	Левая лобная доля и подкорковые ганглии	Умеренное свечение	Глиобластома
17	М	45	-	Таламус справа	нет	Диффузная астроцитома
18	М	31	-	Лобные доли с 2 сторон и МТ	Умеренное свечение	В-клеточная лимфома
19	Ж	51	-	Таламус слева	нет	Диффузная астроцитома
ИТОГО: 19						

Обозначения: МТ – мозолистое тело.

Всего в данную подгруппу вошли 19 пациентов, мужчин – 11 и женщин – 8, медиана возраста составила 50 лет (минимальный – 29, максимальный – 77 лет). Рамочный стереотаксис с использованием системы CRW использован в 16 случаях, в 3 – безрамочный - система нейронавигации ROSA (Рисунок 38).



Рисунок 38 - Выполнение СТБ с помощью системы робоассистенции ROSA. А: регистрация в системе с помощью лазера. Б: построение траектории биопсии; трехмерная реконструкция кортикальных вен для выбора безопасной точки входа иглы, траектория биопсии в трехмерном изображении и выставление ограничения глубины введения на биопсийной игле.

Клиническая картина в данной серии пациентов была представлена гемипарезами (31%), речевыми нарушениями (46%), общемозговыми симптомами (61%), пароксизмальной симптоматикой (30%). Средний балл по шкале Карновского составил 70. Всего исследовано 57 биоптатов у 19 пациентов.

Повторно оперированы 4 пациента, у 15 человек операция проводилась впервые. Для анализа свечения биоптатов использованы: 1) операционный микроскоп в режиме BLUE 400 – у 12 пациентов и 2) лазерная спектроскопия - у 1 пациента (волокно спектрометра было встроено в стереотаксическую канюлю).

В нашей серии отмечалось свечение 12/19 пациентов (63,1%), при этом флуоресцировали не только злокачественные глиомы (6 случаев: 1 из них – повторная операция при глиобластоме, 3 глиобластомы, оперированные первично, 1 – анапластическая олигодендроглиома, 1 – анапластическая астроцитома), но и 4 из 5 В-клеточных лимфом (в 3 случаях использован микроскоп в качестве

источника света, в одном случае – лазерный спектрометр, соединенный с канюлей для взятия биопсии). Отмечалось, что для лимфом была характерна яркая флуоресценция (3 из 4 наблюдений).

При этом не светились биоптаты у пациента с 1 лимфомой и 1 глиобластомой. Несмотря на отсутствие ожидаемого свечения в 2 последних случаях биопсия была информативна, поскольку хирург проверял информативность СТБ также методом ожидания экспресс биопсии и оперативное вмешательство не было окончено до получения заключения о информативной биопсии из лаборатории патоморфологии Центра. Отсутствие свечения в случае со злокачественными опухолями (глиобластомой и лимфомой) можно объяснить гетерогенным свечением этих опухолей и взятием биопсии из несвещающейся части опухоли.

При анализе флуоресценции биоптатов, полученных при СТБ глиом низкой степени злокачественности установлено, что флуоресцировали 1 олигодендроглиома (слабое свечение) и 1 диффузная астроцитома (яркое свечение). Не флуоресцировали биоптаты у пациента с 1 лимфомой, 5 диффузными астроцитомами (что было ожидаемо), и 1 глиобластомой (всего 7 человек).

В 4 из 19 случаев в нашей серии были выполнены повторные СТБ, при этом вследствие неинформативности биоптатов в ходе первого вмешательства - только в 2 случаях (Таблица 24).

Таблица 24 - Причины повторных оперативных вмешательств при СТБ с 5-АЛК

Причина повторной операции	Гистология	Число пациентов
Неинформативная биопсия	Диффузная астроцитома/глиобластома	2
Артериальная гипотония в ходе операции	Диффузная астроцитома	1
Отсутствие очага при расчетном снимке	Лимфома (лечению предшествовал прием гормонов)	1

В 3 из 4 повторных операций отмечалось яркое свечение опухолей (из них в 2 случаях отмечалась лимфома, в 2 –х - глиома). При анализе причин повторных

операций в 1 случае отмечалась гипотония после введения наркоза, в 1 случае при лимфоме головного мозга отсутствовал очаг на расчетных снимках. Пациент до СТБ получал кортикостероиды, МРТ до операции была выполнена за 2 недели до госпитализации и повторно не переделывалась. Эта ситуация потребовала выписки и повторной операции после МРТ подтвержденного рецидива опухоли через 3 месяца.

Все 2 пациента с неинформативной биопсией были оперированы повторно в сроки от 5 дней до 3 месяцев. В первом случае при глиобластоме свечения биоптатов при первой биопсии не получено, биопсия была остановлена. При повторной СТБ у данного пациента получено яркое свечение в биоптате, гистологически подтверждена глиобластома. Причиной неинформативной биопсии при первой операции являлось недостаточное углубление канюли в точке цели при взятии биопсии в связи с выраженным кровотечением. Во втором случае неинформативной СТБ у пациента с диффузной глиомой отмечалось яркое свечение в биоптатах (под флуоресцентной лампой микроскопа), но биопсия не выявила опухоль. При повторной биопсии выявлена диффузная астроцитома. Таким образом, данное наблюдение демонстрирует ложно-положительную флуоресценцию и может быть объяснено неспецифическим свечением в зоне опухолевого отека-инфильтрации.

Таким образом, свечение опухолевых биоптатов при СТБ с 5-АЛК было получено у 12 (63,1%) из 19 пациентов. Флуоресценция была более характерна для пациентов с лимфомами и глиомами высокой степени злокачественности - 10/12 (83,3%), при этом в 50% случаев отмечалось яркое свечение.

При анализе флуоресцирующих биоптатов у 10 пациентов с глиомами высокой степени злокачественности и лимфомами (20 биоптатов), во всех случаях выявлены опухолевые клетки. На рисунке 39 представлены варианты свечения биоптатов, полученных при СТБ: при анапластической глиоме (слабое свечение), глиобластоме (умеренное свечение); при лимфоме (яркая флуоресценция).

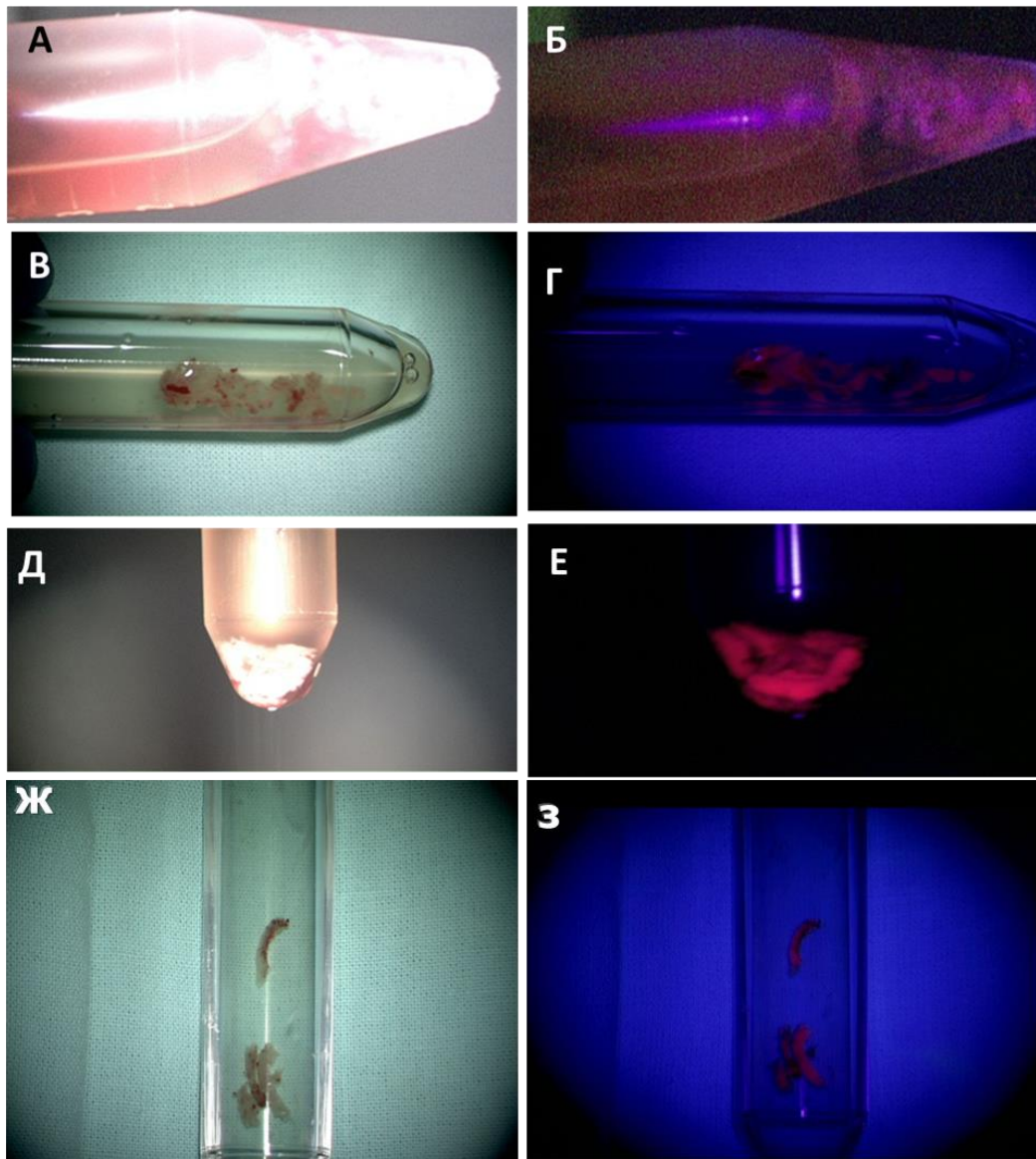


Рисунок 39 - Флуоресценция биоптатов после СТБ с ФД. Последовательно представлены биоптаты в белом и флуоресцентном режимах микроскопа. А и Б: биоптаты слабо флуоресцируют (глиома Grade III), А – вид биоптатов в белом свете, Б – вид биоптатов во флуоресцентном режиме, В и Г - умеренное свечение биоптатов средней интенсивности (глиобластома), В - вид биоптатов в белом свете, Г – вид биоптатов во флуоресцентном режиме, Д и Е - яркое свечение биоптатов (лимфома), Д - вид биоптатов в белом свете, Е – вид биоптатов во флуоресцентном режиме.

Для оценки флуоресценции биоптата последний помещался под свет флуоресцентного модуля микроскопа (Рисунок 40).

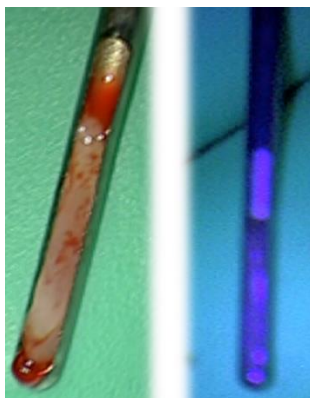


Рисунок 40 - Проверка свечения биоптатов, взятых в ходе СТБ, под флуоресцентной лампой микроскопа. Слева – вид в белом свете, справа – во флуоресцентном режиме.

Клиническое наблюдение 11

М., 59 лет. Применение метаболической навигации при стереотаксической биопсии у пациента с подозрением на лимфому глубинных отделов правой лобной доли. В ходе выполнения СТБ у пациента отмечалась яркая флуоресценция биоптатов. Срочное гистологическое исследование в связи с ярким свечением и уверенностью хирурга в получении информативного материала, не проводилось. Последующее гистологическое исследование выявило подозрение на плазмоцитому (Рисунок 41).

Пациент получил несколько курсов (3) интраартериальной химиотерапии (метотрексат + карбоплатин) с прорывом ГЭБ. Гистологическое исследование: плазмоцитома с низким пролиферативным индексом до 5-7% на основе морфологических особенностей опухоли и иммунофенотипа: экспрессия CD45 (гетерогенная, преимущественно слабая мембранная реакция), CD79a+ (цитоплазматическая реакция. MUM1+ (интенсивная ядерная реакция). Индекс пролиферативной активности Ki-67 низкий, составляет в среднем 5-7% позитивных клеток инфильтрата с плазмочелочной морфологией. Дальнейшая верификация диагноза не представляется возможной в виду малого количества материала в парафиновом блоке.

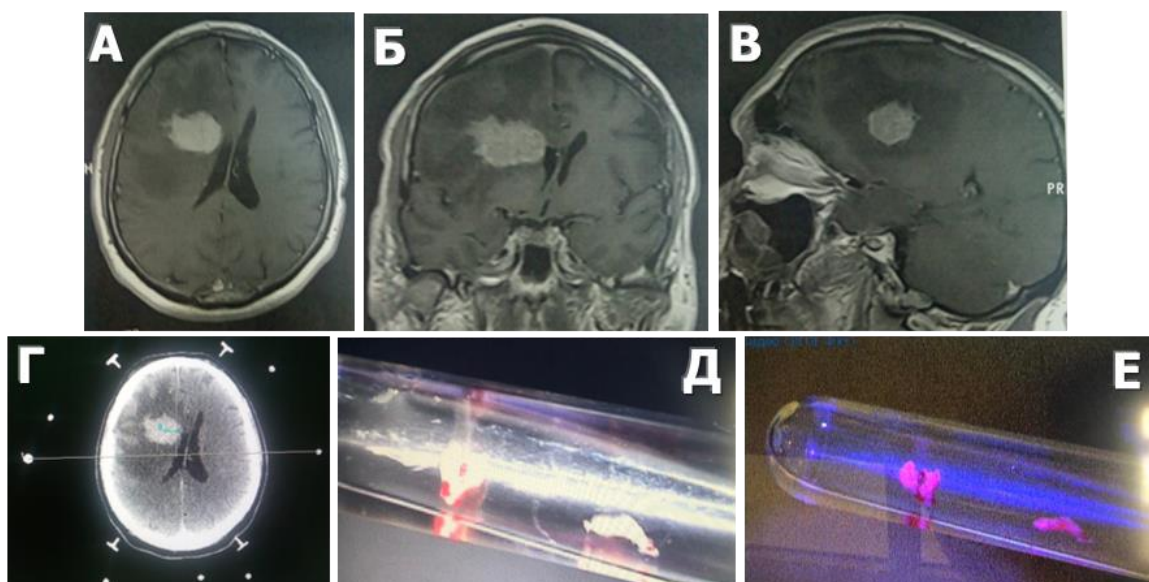


Рисунок 41 - Интраоперационная флуоресцентная диагностика у пациента с плазмоцитомой глубинных отделов правой лобной доли. А: МРТ головного мозга до операции, в T1 режиме с контрастированием, аксиальная проекция, Б - МРТ головного мозга до операции, в T1 режиме с контрастированием, коронарная проекция, В - МРТ головного мозга до операции, в T1 режиме с контрастированием, сагиттальная проекция, Г – расчетная СКТ с контрастом, аксиальный срез во время проведения операции, Д – вид биоптатов в белом свете, Е – вид биоптатов во флуоресцентном режиме микроскопа, яркое свечение опухоли.

Таким образом, при наличии яркой флуоресценции во время проведения стереотаксической биопсии ожидание срочного патоморфологического исследования необязательно, что существенно (не менее, чем на 30 минут) сокращает время операции. Интраоперационная флуоресценция биоптатов является надежным предиктором наличия опухолевых клеток в биоптате при глиомах высокой степени злокачественности и лимфомах (83,3%). При этом яркое свечение было характерным для пациентов с глиобластомами и лимфомами, имеющими выраженное контрастирование на МРТ. В ходе проведения данного исследования использовался микроскоп с флуоресцентным модулем. Более сложная ситуация отмечается при отсутствии флуоресценции биоптатов. В данной ситуации необходимо применение стереотаксической спектроскопии или ожидание результатов срочного патоморфологического исследования.

Совместно с коллегами из Института общей физики им А.М. Прохорова РАН была сконструирована и апробирована канюля для СТБ, в которую были встроены спектроскопические волокна - Горяйнов С.А., Назаров В.В., Жуков В.Ю. и соавт. Устройство для биопсии паренхиматозных органов с одновременным спектроскопическим контролем. Патент № 2529629 (Рисунок 42).

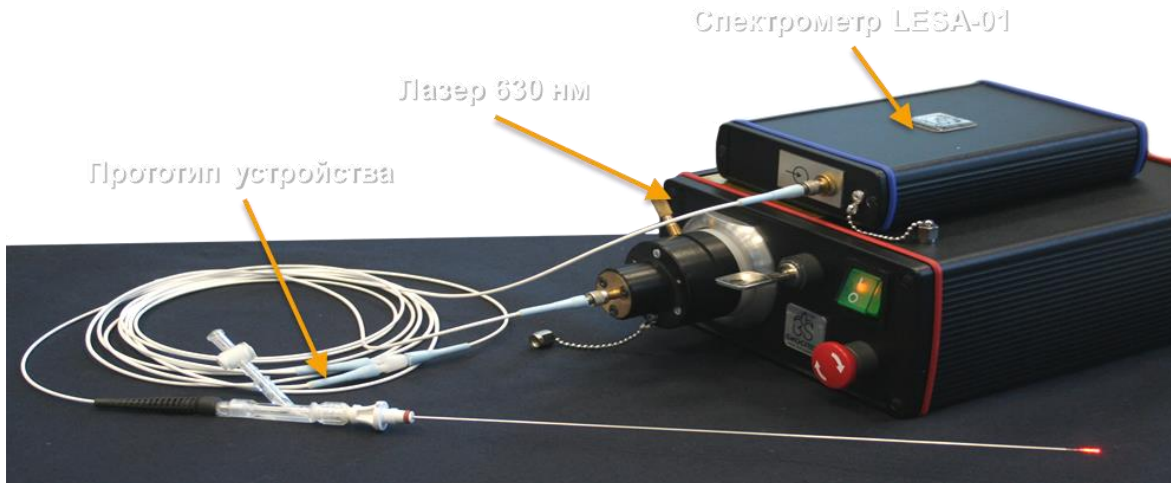


Рисунок 42 - Канюля для стереотаксической спектроскопии с интегрированным оптоволоконном.

Данная канюля была использована при проведении СТБ у 1 пациента (М., 65 лет) с глиобластомой левой лобной доли и мозолистого тела. Опухоль интенсивно накапливала протопорфирин. После извлечения биоптатов последние также ярко светились при визуализации с использованием флуоресцентного режима микроскопа. Спектрограмма измерений представлена ниже (Рисунок 43).

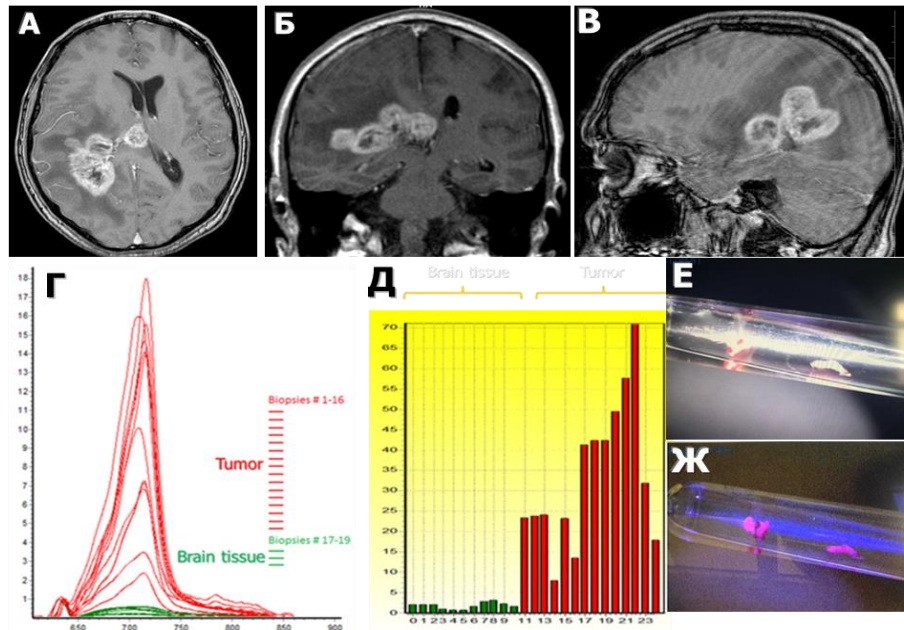


Рисунок 43 - Стереотаксическая спектроскопия у пациента М., 65 лет с глиобластомой правой височно-теменно-затылочной области и мозолистого тела. А: МРТ в Т1 режиме с контрастированием, аксиальный срез, Б - МРТ в Т1 режиме с контрастированием, коронарный срез, В - МРТ в Т1 режиме с контрастированием, сагиттальный срез, Г - выявляется интенсивное накопление протопорфирина в опухоли в виде пиков, Д - выявляется интенсивное накопление протопорфирина в опухоли в виде диаграммы, значительно превышающее фонный уровень в белом веществе, измеренном по ходу траектории, Е – вид извлеченных биоптатов в белом свете, Ж - вид извлеченных биоптатов во флуоресцентном режиме, отмечается яркое свечение биоптатов. Гистология: глиобластома, NOS.

Осложнения в нашей серии отмечались у 2 пациентов – у 1 больного после СТБ лимфомы отмечалось транзиторное нарастание гемипареза до умеренного (в связи с локализацией опухоли вблизи двигательных зон) и 1 пациента – небольшое кровоизлияние в зоне СТБ в глубинных отделах правого полушария, не потребовавшее хирургического лечения.

Проведение СТБ опухолей головного мозга можно сочетать с метаболической навигацией с оценкой свечения биоптатов с использованием как микроскопа с флуоресцентным модулем, так и специальной канюли с интегрированным спектральным волокном.

Метод наиболее эффективен при глиомах высокой степени злокачественности и интракраниальных лимфомах (83,3%) для интраоперационной селекции информативных биоптатов. Требуется проведение дальнейших

исследований эффективности применения стереотаксической биоспектроскопии при диффузных доброкачественных глиомах, неконтрастирующихся на МРТ.

Резюме главы 5

Глиомы головного мозга являются гетерогенными опухолями. Контрастирование, по данным МРТ, не является надежным предиктором анаплазии в глиомах. Так оно может отсутствовать в анапластических фокусах глиом (50% анапластических олигодендроглиом не накапливают контрастный препарат на МРТ) и, наоборот, встречаться в доброкачественных глиомах, в частности около 20% глиом Grade I-II имеют контрастное усиление на МРТ [141-144]. Применение метаболической навигации в данных случаях обосновано и позволяет выполнить прицельную биопсию из анапластического флуоресцирующего фокуса (25,9%). Флуоропозитивные участки диффузных глиом Grade II-III имеют достоверно большую пролиферативную активность и плотность ядер клеток чем флуоронегативные.

Метод СТБ с ФД показан для селекции биоптатов и проверки информативности биопсии у пациентов с лимфомами и злокачественными глиомами (чувствительность 83,3%). Общая чувствительность метаболической навигации, включая глиомы низкой, высокой степени злокачественности и лимфомы в нашей серии составила 63,1%. Требуется продолжение исследований о применении ФД при СТБ опухолей головного мозга, включая метод стереотаксической спектроскопии.

Глава 6 Метаболическая навигация в хирургии глиом головного мозга, локализованных вблизи функционально значимых зон головного мозга

6.1 Флуоресцентная диагностика у пациентов с глиомами головного мозга, расположенных вблизи двигательных зон коры и пирамидного тракта

При анализе пациентов с глиомами головного мозга с использованием 5-АЛК и моторным картированием коры и пирамидного тракта было исследовано 124 пациента (в данной выборке использованы только наблюдения с обязательным применением флуоресценции и фиксацией данных нейрофизиолога в дополнительном протоколе нейрофизиологической группы в периоде с 2016 по 2020гг). Из них у 28 пациентов (22,6%) были выявлены моторные зоны (6 – моторная кора и 24 – волокна пирамидного тракта, 2 – и кора и кортикоспинальный тракт). У остальных 96 пациентов моторные зоны при операциях с метаболической навигацией не найдены (Рисунок 44).

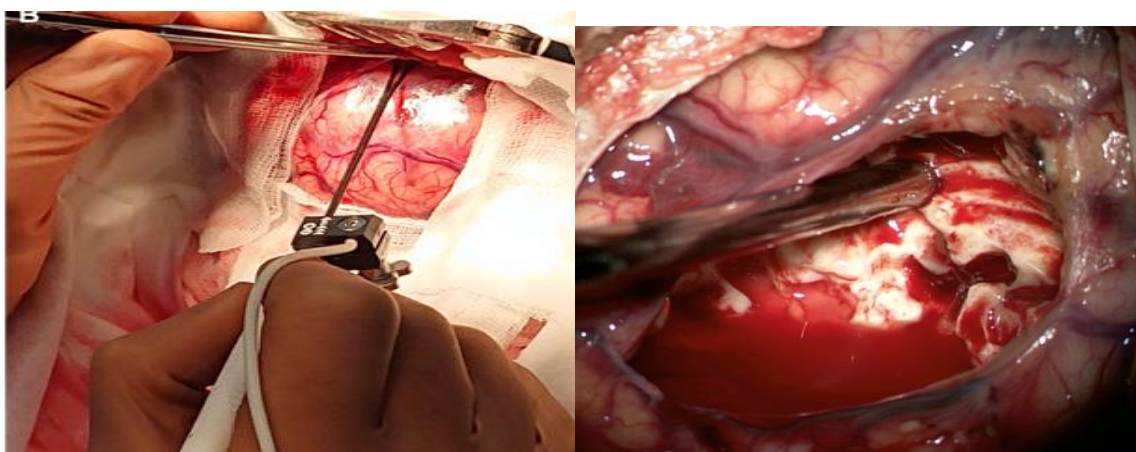


Рисунок 44 - Фотографии с интраоперационного микроскопа на этапе кортикальной биполярной стимуляции электродом, совмещенным с адаптером для нейронавигации и на этапе удаления опухоли в ее ложе с помощью монополярной высокочастотной электрической стимуляции с корпуса аспиратора.

При анализе послеоперационных гемипарезов его нарастание отмечено в 13 случаях в наблюдаемой группе (или в 10,5% случаев), стойкий гемипарез

отмечался у 8 пациентов (6,5%). В данной подгруппе из 28 наблюдений с выявленными моторными зонами у 11 пациентов были глиомы Grade II, 7 – Grade III и 10 – Grade IV. Распределение по флуоресценции в данной подгруппе представлено ниже (Таблица 25).

Таблица 25 - Сочетанное применение метаболической навигации и непрерывной высокочастотной электрической стимуляции моторных зон мозга при найденных М ответах от кортикоспинального тракта (КСТ) и моторной коры.

Флуоресценция основной части опухоли	Флуоресценция в ложе опухоли	М ответ с моторной коры	М ответ от КСТ
Ф (+) 20 (71,4%)	Ф (+) 17 (60,7%)	М (+) 6 (21,4%)	М (+) 24 (85,7%)
Ф (-) 8 (28,5%)	Ф (-) 11 (39,3%)	М (-) 22 (78,6%)	М (-) 4 (14,3%)
ИТОГО: 28 (100%)			

Примечания: Ф (+) – флуоресценция имеется, Ф (-) – флуоресценция отсутствует, М (+) – моторный ответ выявлен, М (-) – моторный ответ отсутствует.

Флуоресценция основной части опухоли выявлялась у 20 (71,4%) пациентов подгруппы, при этом к концу операции свечение опухоли в ложе выявлено только у 17 (60,7%) пациентов - (Приложение Е).

Таким образом, в данной подгруппе пациентов 7 случаях выявлено диффузное свечение в ложе удаленной опухоли. В 10 наблюдениях выявлено фокусное свечение в ложе удаленной опухоли. Во всех наблюдениях продолжена резекция опухоли (как флуоресцирующей части у 5 пациентов, так и нефлуоресцирующей у 8 пациентов, так и обеих частей – 4 наблюдения), расположенных вне зоны положительного М ответа.

Общий принцип при наличии положительного М ответа и наличии свечения в ложе удаленной опухоли состоял в определении функциональной зоны в ложе удаленной опухоли и продолжении резекции вне ее в зоне свечения. В конце резекции вне функциональной зоны повторялась субкортикальная ЭС в ФЗЗ для проверки получения М ответов. При этом в данных участках остаточная флуоресценция ложа выявлена у 6 пациентов в зоне (+) М ответов. У остальных 11 пациентов зоны (+) М ответов были выявлены вне зон остаточной флуоресценции,

в связи с чем последние были доудалены (Таблица 26).

Таблица 26 - Типы совпадения зон остаточной флуоресценции и зон (+) М ответов к концу резекции.

Тип	Тип совпадения флуоресценции и ЭС	Число	Тип свечения	Тактика
1	Флуоресценция остатков и моторные зоны совпадают полностью	6 (35,3%)	диффузный	Частичная резекция флуоресцентной части опухоли вне ФЗЗ.
2	Флуоресценция остатков и моторные зоны совпадают частично	4 (23,5%)	фокусный	Зону остаточного свечения в ФЗЗ не трогать
3	Флуоресценция остатков и моторные зоны не совпадают	7 (41,1%)	фокусный	Полная резекция флуоресцентной части опухоли
ИТОГО: 17 (100%)				

Клиническое наблюдение 12

Пациент М., 59 лет госпитализирован в Центр нейрохирургии с жалобами на слабость, неловкость и онемение в левых конечностях. Данные жалобы возникли около 2-х месяцев назад и постепенно нарастали, что послужило поводом для выполнения МРТ головного мозга с в/в контрастированием, которая выявила объемное образование правой теменной доли с умеренным перифокальным отеком, предположительно глиома высокой степени злокачественности, прилежащая к функционально значимым двигательным зонам коры мозга и пирамидного тракта (Рисунок 45).

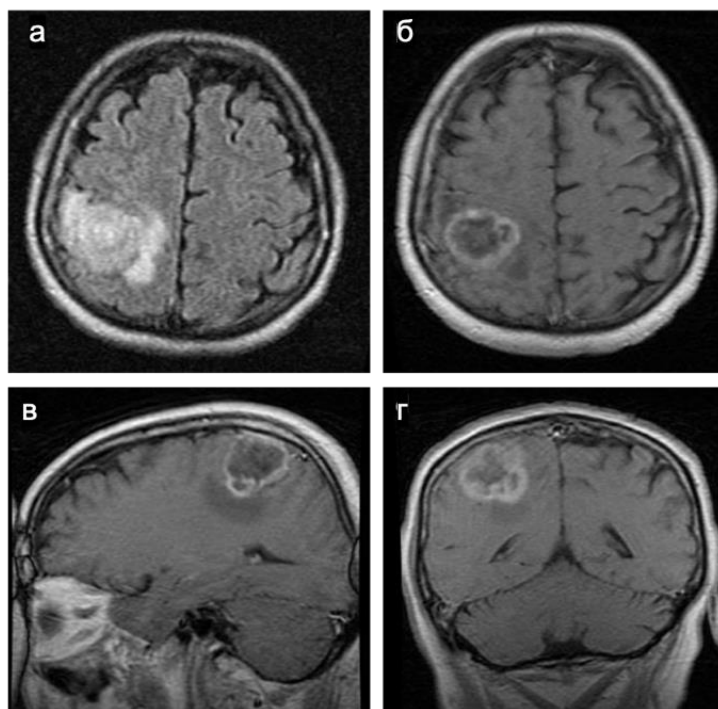


Рисунок 45 - М., 59 лет, клиническое наблюдение 12. МРТ до операции. Внутримозговая опухоль правой теменной доли, прилегающая к прецентральной извилине. Опухоль кольцевидно накапливает контрастный препарат и окружена небольшой зоной отека/инfiltrации. а – аксиальная проекция, T2-FLAIR, б – аксиальная проекция, T1+C, в – сагиттальная проекция, T1+C; г – фронтальная проекция, T1+C.

При неврологическом осмотре на момент госпитализации у пациента отмечались гипестезия и снижение мышечной силы в левых конечностях до 4-х баллов.

Учитывая локализацию процесса и клиническую картину заболевания, в качестве предоперационной подготовки пациенту были проведены фМРТ с визуализацией моторных зон и МР-трактография с построением КСТ (Рисунок 46).

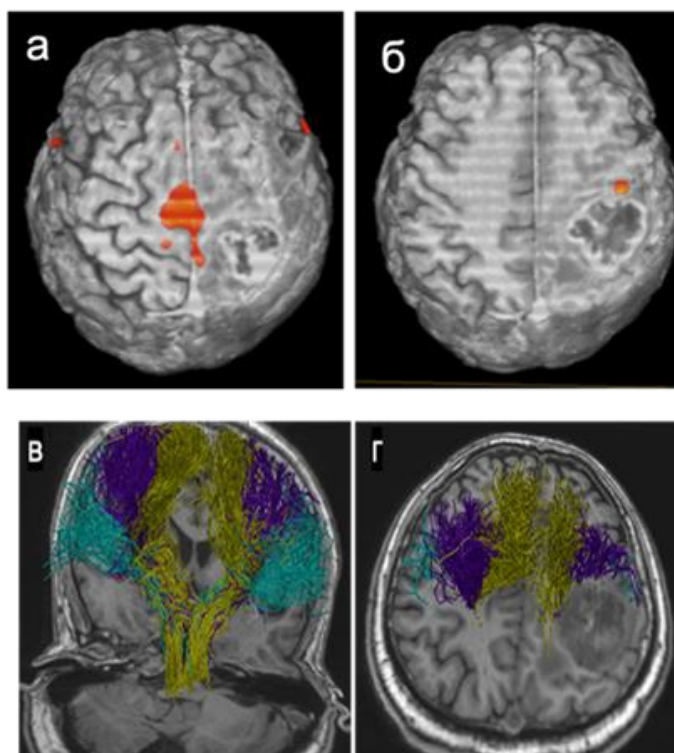


Рисунок 46 - М., 59 лет, клиническое наблюдение 12. МРТ у пациента с внутримозговой опухолью правой теменной доли. а,б – данные фМРТ; а – оранжевым цветом обозначена корковая зона ноги, располагающаяся кнутри и на некотором отдалении от медиальной границы опухоли; б – представлена зона руки, прилегающая к переднему краю опухоли; в,г – данные МР-трактографии (CSD HARDI), использованный алгоритм построения позволил построить и разделить волокна КСТ, иннервирующие ногу (горчичный цвет), руку (фиолетовый), лицо (зеленый). Волокна КСТ прилегают к медиальному и переднему краям опухоли.

В связи с непосредственной близостью опухоли к моторным центрам головного мозга запланировано проведение операции с обязательным нейрофизиологическим мониторингом, включающим динамику ТК МВП, прямую кортикальную и субкортикальную моно- и биполярную стимуляцию), и магнитной интраоперационной навигационной системой FIAGON. Для использования последней, данные фМРТ, МР-трактографии и структурной МРТ были корегестированы в едином файле. Для демаркации границ опухоли также использовалась флуоресцентная навигация (препарат «Аласенс»). Опухолевая ткань светилась ярко розовым цветом (Рисунок 47).

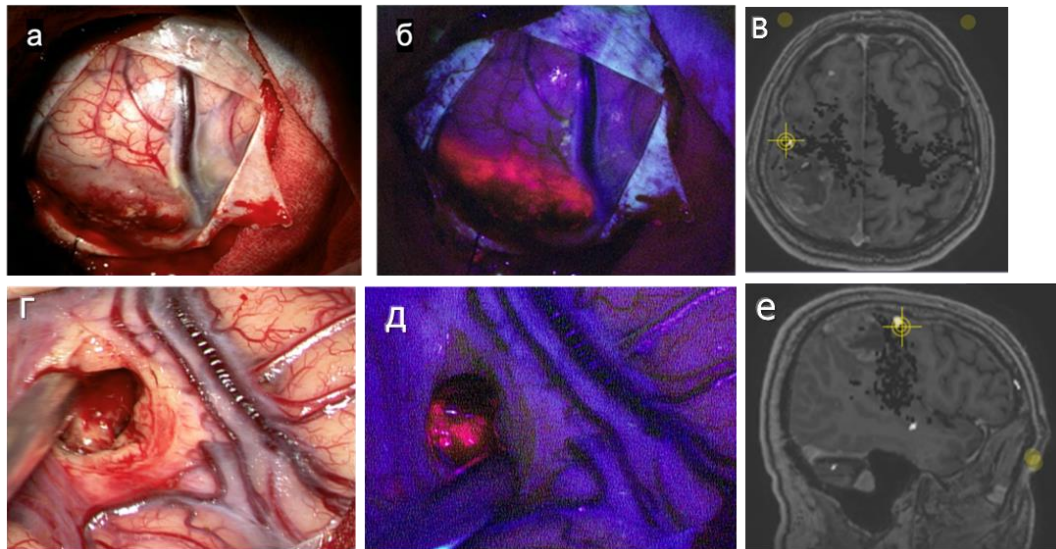


Рисунок 47 - М., 59 лет, клиническое наблюдение 12. Фотография с интраоперационного микроскопа; а – кора, инфильтрированная опухолевой тканью в «белом» свете; б – ярко розовое свечение опухоли, выходящей на кору мозга в режиме BL-400. Фотография с интраоперационного микроскопа, демонстрирующая яркую розовую флуоресценцию опухолевой ткани (субкортикальная часть) в режиме BL-400; в и е – фотография монитора навигационной системы FIAGON во время проведения стимуляции. С помощью маркера зафиксирована точка, в которой получен моторный ответ, в операционной ране данная точка маркировалась с помощью стерильной цифры, г - фотография в «белом» свете, резекция субкортикальной части опухоли, д – фотография в режиме BL-400 - стимуляция в зоне свечения с помощью монополярной электрической высокочастотной стимуляции с корпуса аспиратора монополярным электродом– выявляются моторные ответы при токе 7 мА. Резекция остановлена несмотря на остаточную флуоресценцию.

Данному пациенту проводилась поточечная сравнительная моно- и биполярная стимуляция, в ходе которой получено 4 точки с моторными ответами в ложе удаленной опухоли (Рисунок). Параметры стимуляции в данных точках следующие – для монополярной стимуляции сила тока составила в т.7 – 5-6 мА (кость), т.6 – 5 мА (кость), т.9 – 3-4 мА (плечо), т.8 – 4 мА (кость); для биполярной – в т.7 – 6,5 мА (кость), т.6 – 14 мА (кость), т.9 – 3-4 мА (плечо), т.8 – 2,5 мА

(кисть). Таким образом ответы были получены во всех точках как при моно-, так и при биполярной стимуляции, вовлекаемые в ответ мышцы также были идентичны. Пороговая сила тока составила 3 мА для монополярной стимуляции и 2,5 мА – для биполярной. Опухоль удалена в пределах макроскопически неизменной мозговой ткани. По данным гистологического исследования – глиобластома, WHO Grade IV. В раннем послеоперационном периоде отмечалось транзиторное нарастание мышечной слабости до 2-3 баллов (преимущественно в руке) с практически полным восстановлением до исходного уровня к моменту выписки.

По данным контрольной СКТ сразу после операции интракраниальных осложнений не выявлено, по данным контрольной МРТ, выполненной на следующие сутки, – тотальное удаление контрастируемой части опухоли (Рисунок 48).

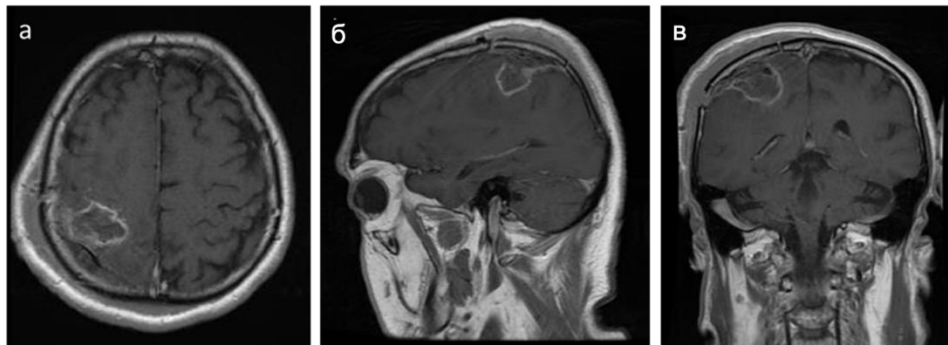


Рисунок 48 - М., 59 лет, клиническое наблюдение 12. Контрольная МРТ у пациента после микрохирургического удаления глиобластомы правой теменной доли, режим T1+C. а – аксиальная проекция; б – сагиттальная проекция; в – фронтальная проекция.

Таким образом, локализация глиомы вблизи двигательной коры или пирамидного тракта не является противопоказанием к применению ФД. В таких случаях необходимо выполнять резекцию с флуоресценцией и нейрофизиологическим контролем, что позволяет уточнить тип соотношения флуоресцирующего остатка опухоли и моторных зон мозга. Это позволяет в ряде случаев продолжить резекцию флуоресцирующей части глиомы.

6.2 Флуоресцентная диагностика у пациентов с глиомами головного мозга, расположенных вблизи речевых зон коры и длинных ассоциативных трактов мозга

Сочетанное использование хирургии с «пробуждением» во время операции и техники флуоресценции применено у 40 пациентов с глиомами головного мозга, из них у 28 пациентов верифицированы корковые зоны речи (23 – Брока и 5 – Вернике). У остальных 12 пациентов были выявлены длинные ассоциативные тракты (в основном, аркуатный пучок). Как видно из таблицы 32, по гистологии преобладали HGG – 18/28 (64%), LGG – 10/28 (36%). По локализации преобладали опухоли левой лобной доли – 19/28 (67,8%) пациентов, лобно-височной области – 3/28 (10,7%), височной доли – 6/28 (21,4%). Следует отметить, что из 28 выявленных речевых корковых зон в 23 наблюдениях была найдена зона Брока (82%), зона Вернике – значительно реже (5 наблюдений или 18%). В 12 случаев из 40 корковые зоны речи не верифицированы (30%).

При анализе флуоресценции в данной подгруппе выявлено, что в 10 наблюдениях отмечено яркое свечение (все опухоли – глиобластомы), в 4 – слабое (3 глиомы Grade II и 1 Grade III). В 14 наблюдениях (50%) видимая флуоресценция отсутствовала, при этом в 7/14 (50%) случаев опухоли были представлены Grade II, в 5 наблюдениях – Grade III и в 2 – Grade IV (Приложение Ж).

Таким образом, в 28 из 40 наблюдений при сочетанном применении 5-АЛК и пробуждение краниотомии нам удалось картировать корковые зоны речи (70%), преимущественно зону Брока (82%), зону Вернике – значительно реже в связи с более сложным процессом ее картирования (18%) и значительным преобладанием в серии пациентов с локализацией поражения в лобной доле (67%). Из 28 наблюдений с картированием зон речи на коре мозга яркая флуоресценция отмечалась в 10 наблюдениях (все – глиобластомы), слабая в 4 случаях (из них 3 – глиомы Grade II, 1 – Grade III) и отсутствовала – в 14 случаях картированных пациентов (50%), при этом половина этих наблюдений составили опухоли Grade II (7 человек).

При анализе остаточной флуоресценции у 14 пациентов с

флуоресцирующими глиомами к концу резекции в белом свете видимое свечение выявлено у 10 больных (71%), все пациенты были с глиобластомами. У 4 пациентов с глиомами Grade II-III флуоресценция основной части опухоли была более слабой и к концу резекции в полости не было остаточного свечения. При этом резекция до исчезновения свечения при краниотомии в сознании была выполнена у 4 человек, у 6 – несмотря на остаточное свечение опухоли дальнейшая резекция была невозможна ввиду появления речевых нарушений при электростимуляции в зоне свечения в ложе удаленной опухоли.

Таким образом, данная часть нашего исследования, посвященная сочетанному применению 5-АЛК и краниотомии в сознании в хирургии глиом, расположенных вблизи или непосредственно в речевых зонах коры позволяет нам сделать предварительный вывод, что сочетанное применение методик является возможным и обоснованным. Кандидатом для сочетанной методики (метаболическая навигация+хирургия с пробуждением) является пациент с небольшой глиобластомой или анапластической глиомой (поскольку вероятность ее яркого свечения значительно выше), расположенной в зоне Брока/Вернике или вблизи нее с относительно сохранной речевой функцией до операции.

В тоже время, при доброкачественных глиомах сочетанное применение метаболической навигации и краниотомии в сознании для картирования речевых зон коры мозга не исключается, хотя чувствительность ФД в этой категории пациентов значительно ниже (46%) по сравнению с анапластическими глиомами (65%) и глиобластомами (94%). У пациентов с картированными во время операции корковыми зонами речи значительно чаще выявлялась зона Брока (82%) относительно зоны Вернике (18%). В 30% случаев во время картирования коры речевые зоны не были выявлены.

У 12 из 40 пациентов (30%), оперированных с использованием метаболической навигации и краниотомии в сознании, были картированы длинные ассоциативные тракты (аркуатный пучок – у 11 пациентов, лобный кривой пучок – у 1 пациента). До операции у 10 из 12 больных речь была в норме. У одной пациентки (№3) имелись легкие явления эфферентной моторной афазии (по

А.Р.Лурия) или афазии Брока, что проявлялось отдельными персеверациями в спонтанной речи и при письме. У другого пациента (№11) речь была в норме, однако при письме отмечались отдельные персеверации букв и слогов.

При интраоперационном картировании речевых зон выявляемые речевые нарушения были схожи с таковыми при эфферентной моторной афазии (Брока), например, персеверации, остановка речи, а также акустико-мнестической афазией (номинативной) – забывание слов. Реже имели место нарушения речи в рамках подкоркового поражения – дизартрия, замедление. Вне стимуляции во время свободного диалога по мере удаления опухоли впервые речевые нарушения появились в 6 из 12 наблюдений (парафазии разного характера, персеверации, проговаривание слов по слогам, дизартрия и замедление речи, забывания слов). Из этих 6 наблюдений только в двух случаях затем проведена прямая электростимуляция, при которой речевые нарушения возникли повторно. В остальных 6 из 12 наблюдений впервые нарушения речи возникли непосредственно при прямой электрической стимуляции.

Таким образом, при прямой электростимуляции речевые нарушения отмечались всего в 8 из 12 наблюдений: остановки речи, вербальные и литеральные парафазии при назывании картинок, персеверации предыдущих слов, забывание слов, замедление и нарушение артикуляции речи (см. таблицу). В 11 случаях в ложе удаляемой опухоли локализован комплекс верхнего продольного и аркуатного пучков (SLF/AF), у одного пациента – лобный кривой пучок (FAT). Мы рассматривали комплекс SLF и AF без разделения этих трактов и сегментации SLF на отдельные пучки. Подробные данные о речевых нарушениях до операции, во время операции и после нее в различные сроки представлены в таблице. Не предъявляя картинок, мы не улавливали нарушения называния (височный компонент), после операции именно он мог выступать на первый план.

У 6 из 12 пациентов, оперированных с применением 5-АЛК с картированными длинными ассоциативными трактами, отмечалась видимая флуоресценция. Пять флуоресцирующих глиом в данной серии были гистологически глиомами высокой степени злокачественности, 1 глиома – флуоресцирующая диффузная астроцитома

Grade II.

Зона кортикотомии всегда выбиралась вне кортикальных зон речи. При сохранении флуоресценции опухоли и появлении интраоперационных нарушений речи резекция приостанавливалась. При отсутствии флуоресценции резекция опухоли осуществлялась до появления речевых нарушений в ходе картирования речи. Флуоресцентный эффект отмечался у 1 пациента с олигодендроглиомой и носил фокусный характер. Флуоресценция в этом случае исчезла после начальной резекции опухоли. В 5 случаях свечение опухоли было гомогенным и имело место как в начале, так и в конце резекции (все 5 глиом – глиомы высокой степени злокачественности).

При возникновении речевых нарушений (как в результате прямой субкортикальной электрической стимуляции, так и спонтанно в процессе резекции), несмотря на остаточное свечение, резекция опухоли приостанавливалась (5 наблюдений). При сочетанном использовании краниотомии в сознании и метаболической навигации в нашей серии встречались различные варианты сочетаний метаболической навигации и картирования длинных ассоциативных трактов у пациентов с глиомами головного мозга в доминантном полушарии (Таблица 27).

После операции у 11 из 12 пациентов с картированными длинными ассоциативными трактами, оперированными с ФД, были выявлены те или иные речевые нарушения. При этом у одного из этих пациентов речевые нарушения появились через сутки после операции, что можно связать с нарастанием послеоперационного отека мозгового вещества. У одного пациента после операции выявлялся умеренный правосторонний гемипарез, преимущественно в руке.

У 10 человек из исследованной нами серии пациентов афазия, выявленная после операции удаления опухоли лобной доли левого полушария, имела сложный характер.

Таблица 27 - Варианты сочетаний метаболической навигации и картирования длинных ассоциативных трактов у пациентов с глиомами головного мозга в доминантном полушарии.

Флуоресценция опухоли	Данные картирования длинных ассоциативных трактов, речевой коры	Тактика хирурга	Число пациентов в серии
Флуоресценция есть (1 в начале, 5 на всех этапах операции)	Тракты найдены	Остановка резекции, несмотря на остаточное свечение	6 (15%)
Флуоресценции нет	Тракты найдены	Остановка резекции при появлении речевых нарушений	6 (15%)
Флуоресценция есть	Тракты не найдены, картированы корковые зоны речи	Продолжение резекции до исчезновения свечения	14 (35%)
Флуоресценции нет	Тракты не найдены, картированы корковые зоны речи	Продолжение резекции до визуально неизменной ткани в белом свете	14 (35%)
ИТОГО:		40 (100%)	

Только двое пациентов после операции не имели афазии: у одного пациента выявлялись подкорковые нарушения речи (замедление, негрубая дизартрия) и письма (письмо «разорванное», неплавное, микрография). Опухоль у него была небольшого размера, располагалась преимущественно в дорсомедиальной префронтальной области, во время тестирования имелись нарушения речи, сходные с послеоперационными. Еще у одной пациентки речь оставалась нормальной за весь период наблюдения. Опухоль у нее была небольших размеров, располагалась вблизи зоны Брока (по данным фМРТ).

Во время интраоперационного тестирования выявлялись perseverации и парафазии при назывании действий, что и позволило идентифицировать зону Брока.

Проведенная всем пациентам с картированными длинными ассоциативными трактами, оперированными с ФД, МРТ в первые 48-72 часа после операции показала, что тотальная резекция (более 90% опухоли) выполнена в 7 наблюдениях (58%), субтотальная - в двух (16,6%), частичная - в двух (16,6%), открытая

биопсия – в одном наблюдении (8%). По данным послеоперационной МР-трактографии ложе удаленной опухоли непосредственно граничило с комплексом SLF/AF в 7 наблюдениях (58%), располагалось вблизи от комплекса SLF/AF – в трех (25%), непосредственно граничило с FAT - в двух наблюдениях (16,6%). Ниже приводятся клинические примеры резекций глиом, локализованных в речевых зонах с применением метаболической навигации.

Клиническое наблюдение 13

М., 40 лет. Сочетанное применение флуоресцентной диагностики и нейрофизиологического картирования речи при хирургии «с пробуждением» у пациента с анапластической астроцитомой левой лобной доли. При первом включении флуоресцентного режима выявлено слабое свечение опухоли, выходящей на кору мозга.

Проведено картирование кроковых зон речи и аркуатного пучка: непрерывное речевое тестирование (спонтанная и автоматизированная речь): во время удаления опухоли с использованием непрерывной монополярной стимуляции с корпуса (наружной поверхности) аспиратора: на глубине около 3 см: отмечались нарушения речи. Удаление опухоли остановлено. Отмечается слабая остаточная флуоресценция опухоли (Рисунок 49).

Во время операции несмотря на остаточную флуоресценцию, резекция опухоли была приостановлена ввиду появления речевых нарушений (которые были получены при стимуляции монополярным стимулятором в ложе волокон аркуатного тракта). В послеоперационном периоде у больного отмечались явления сочетанной афазии височного (акустико-мнестическая) и лобного типов (персеверации). Речевые нарушения полностью регрессировали на фоне занятий с логопедом через 3 недели после операции. Гистология: анапластическая астроцитома (IDH 1+).

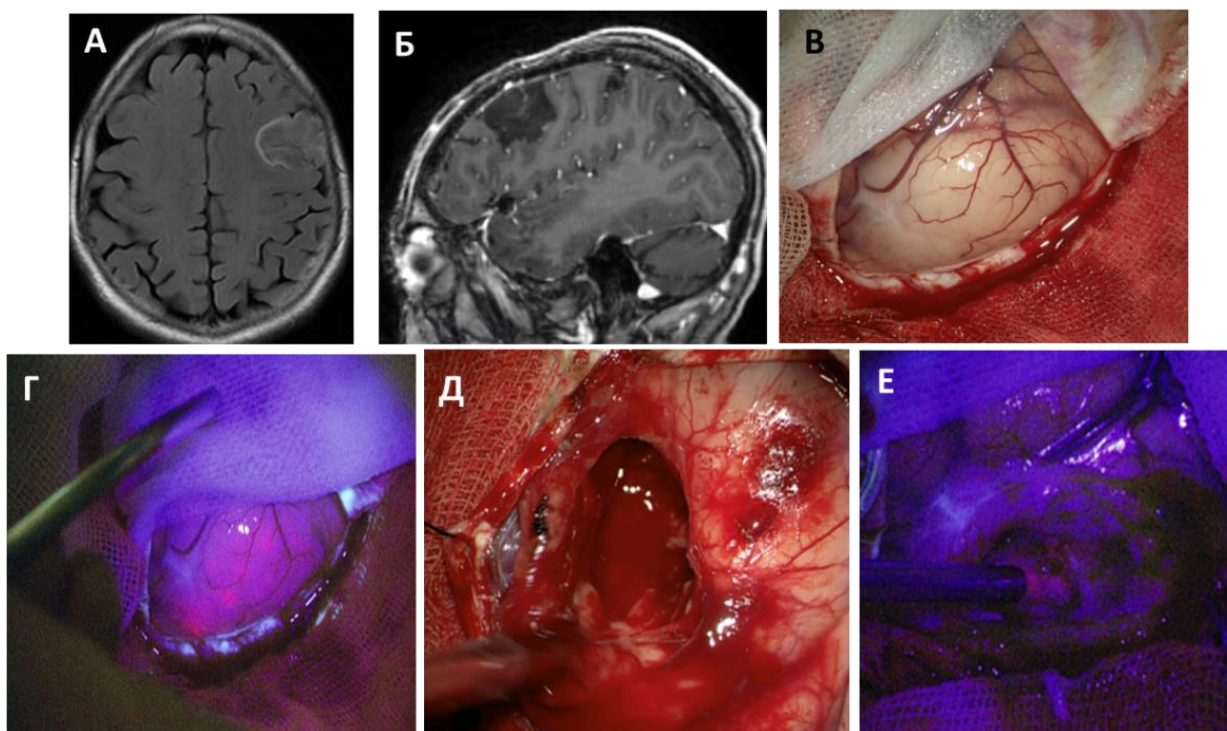


Рисунок 49 - М., 40 лет, клиническое наблюдение 13. Сочетанное применение метаболической навигации и краниотомии в сознании у пациента с анапластической астроцитомой левой лобной доли. А - МРТ аксиальный срез в T2 FLAIR режиме, Б - сагиттальный срез в T1 режиме с контрастированием (опухоль не коптит контраст), В - интраоперационная фотография в белом свете (неизменная кора мозга), Г - интраоперационная фотография в синем свете, слабое свечение опухоли, выходящей на кору мозга, Д- фотография в белом свете после завершения резекции опухоли и появления афатических нарушений вследствие близости к аркуатному тракту, Е – резекция остановлена, однако отмечается остаточная флуоресценция инфильтративной части опухоли. Удаление флуоресцирующего осадка опухоли далее не проводилось ввиду опасности нарастания необратимых речевых расстройств после операции вследствие пересечения волокон лобной порции дугообразного пучка.

Клиническое наблюдение 14

Ж, 61 год. Сочетанное применение флуоресцентной диагностики и хирургии с интраоперационным «пробуждением» у пациентки с глиобластомой левой лобной доли (Рисунок 50). Во время операции на этапе удаления опухоли отмечались речевые нарушения в виде появления сочетанной афазии. Резекция остановлена, у пациента отмечалась остаточная флуоресценция в ложе. В неврологическом статусе в послеоперационном периоде отмечалась сочетанная

афазия: моторная в сочетании с амнестической и динамической, обусловленная разобщением связей между левой лобной и височной долями за счет частичного повреждения аркуатного пучка во время операции. Полный регресс явлений афазии к 7 суткам послеоперационного периода на фоне противоопухолевой терапии. Гистологическое исследование: глиобластома: IDH-1 NOS.

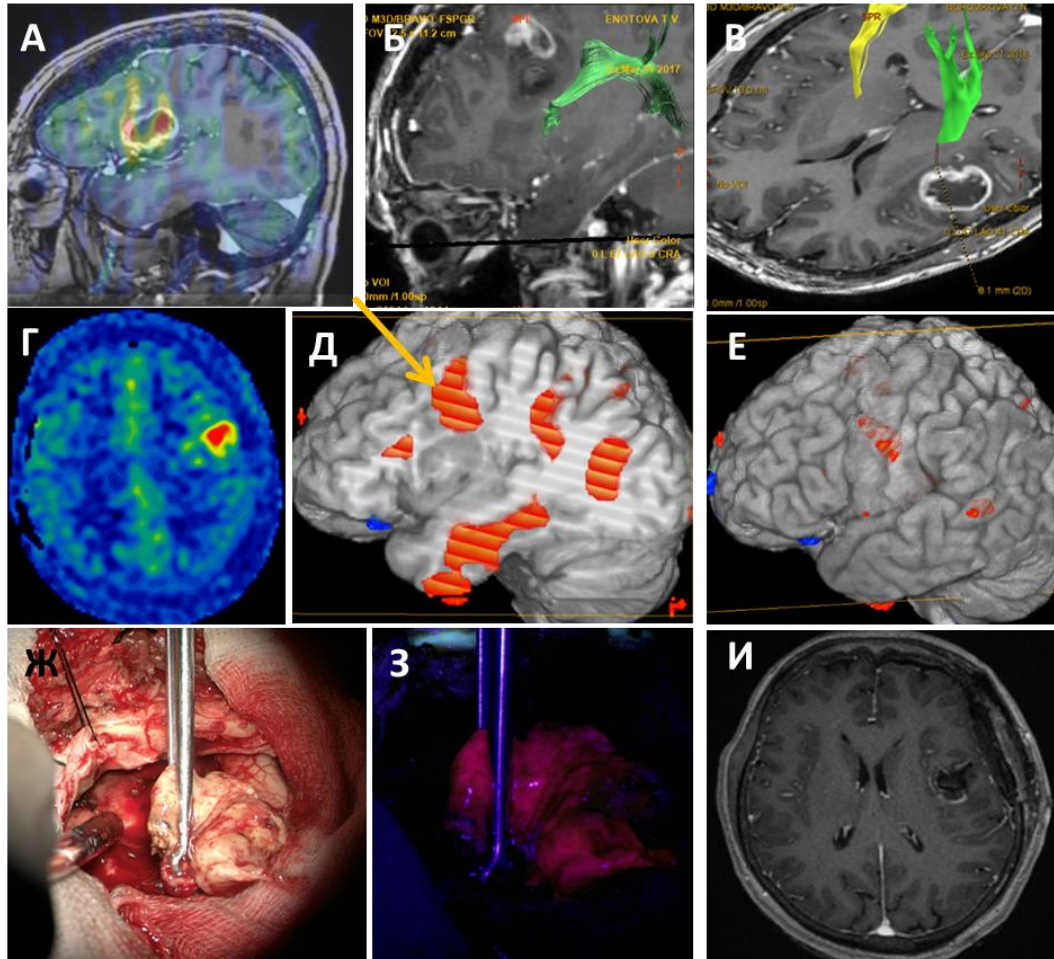


Рисунок 50 - Сочетанное применение метаболической навигации и краниотомии в сознании у пациента с глиобластомой левой лобной доли, расположенной в зоне Брока. А - МРТ с контрастированием сагиттальный срез, T1 режим, Б - МР трактография аркуатного пучка, находится вблизи опухоли, часть волокон в лобной порции тракта не простираются (зона отека-инfiltrации), В - МР трактография с построением пирамидного тракта, тракт вне опухоли, Г - ASL перфузия показывает повышенный кровоток у опухоли, в центре, Д - дооперационное обследование с выполнением фМРТ (картирована зона Брока, указана стрелкой), расположена над опухолью. Ж - интраоперационная фотография в белом свете, З - интраоперационная фотография в синем свете, опухоль ярко флуоресцирует, И - послеоперационное МРТ в T1 режиме с контрастированием – тотальное удаление контрастируемой части опухоли.

Клиническое наблюдение 15

Ж., 46 лет. Сочетанное использование метаболической навигации и краниотомии в сознании у пациентки с глиобластомой левой лобной доли (проекция средней и нижней лобных извилин) (Рисунок 51).

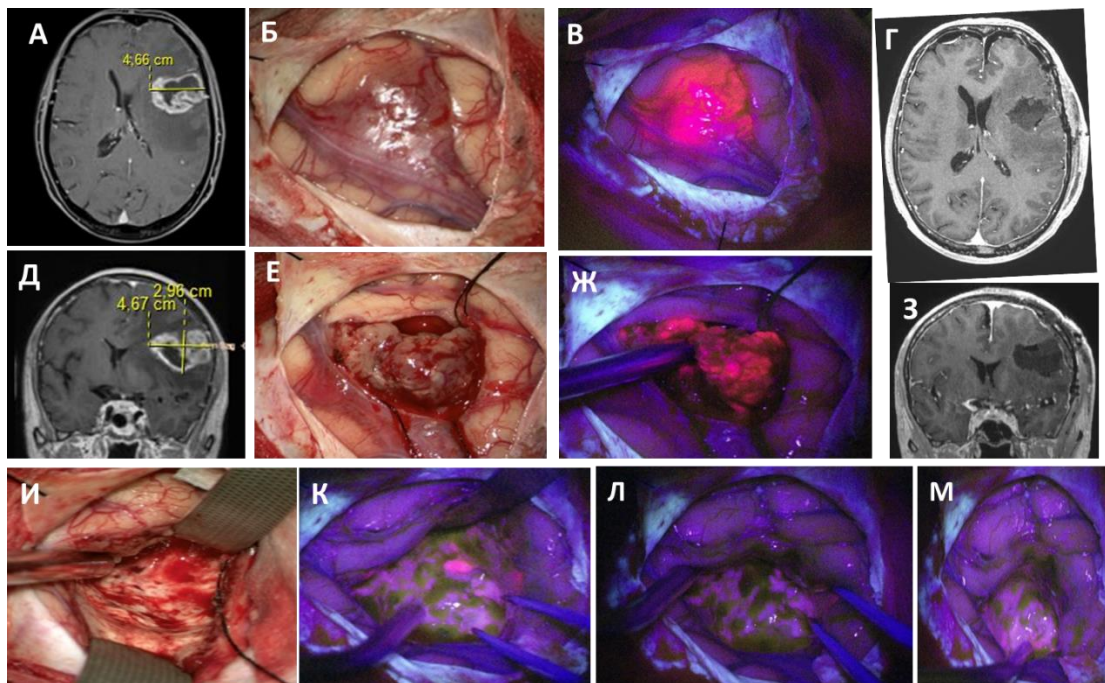


Рисунок 51 - А – МРТ головного мозга с контрастированием, аксиальный срез, Б - вид в операционном микроскопе в белом свете, опухоль выходит на кору мозга, В - вид в операционном микроскопе во флуоресцентном режиме, опухоль выходит на кору мозга и ярко флуоресцирует, Г – послеоперационная МРТ с контрастированием в T1 режиме, тотальное удаление контрастируемой части опухоли, аксиальный срез, Д – дооперационная МРТ с контрастированием в T1 режиме, коронарный срез, опухоль расположена в проекции средней и, частично, нижней лобной извилин, Е – интраоперационная фотография с микроскопа в белом свете, этап удаления опухоли, Ж - интраоперационная фотография с микроскопа во флуоресцентном режиме, этап удаления опухоли, яркое свечение опухоли, З - послеоперационная МРТ с контрастированием в T1 режиме, тотальное удаление контрастируемой части опухоли, коронарный срез, И – завершающий этап удаления опухоли, вид операционной раны перед выполнением гемостаза, К – вид в операционном микроскопе во флуоресцентном режиме, остаточная флуоресценция в конце этапа резекции. Л, М- вид в операционном микроскопе.

Во время этапа удаления опухоли осуществлялся непрерывный речевой контакт с пациентом. Флуоресценция опухоли в начале резекция была выраженной, в том числе на коре и в основной массе глиомы, постепенно уменьшаясь до полного исчезновения к концу операции. В итоге вся

флуоресцирующая ткань опухоли удалена, что подтверждается данными МРТ с контрастом после операции. В раннем послеоперационном периоде – негрубая смешанная афазия. Регресс речевых нарушений через 1.5 месяца. Гистология: глиобластома IDH 1 (+).

Клиническое наблюдение 16

Ж, 63 года. Сочетанное применение флуоресцентной диагностики и хирургии с интраоперационным «пробуждением» у пациентки с глиобластомой левой лобной доли, расположенной в проекции зоны Брока. Во время операции на этапе удаления опухоли отмечались речевые нарушения в виде появления сочетанной афазии. Дальнейшая резекция в данной зоне невозможна ввиду пересечений, появляющихся при прямой биполярной электрической стимуляции. Резекция остановлена, у пациента отмечалась остаточная флуоресценция в ложе. В неврологическом статусе в послеоперационном периоде отмечалась сочетанная афазия: моторная в сочетании с амнестической и динамической, обусловленная разобщением связей между левой лобной и височной долями за счет частичного повреждения аркуатного пучка во время операции. Полный регресс явлений афазии к 7 суткам послеоперационного периода на фоне противоопухолевой терапии. Гистологическое исследование: глиобластома: IDH-1 NOS (Рисунок 52).

Таким образом, у пациента с ярко флуоресцирующей глиобластомой левой лобной доли после резекции основной массы опухоли отмечалась ярко выраженная остаточная флуоресценция в зоне инфильтрации. Удаление этой части опухоли было невозможно ввиду появления речевых нарушений при стимуляции в зоне остаточной флуоресценции.

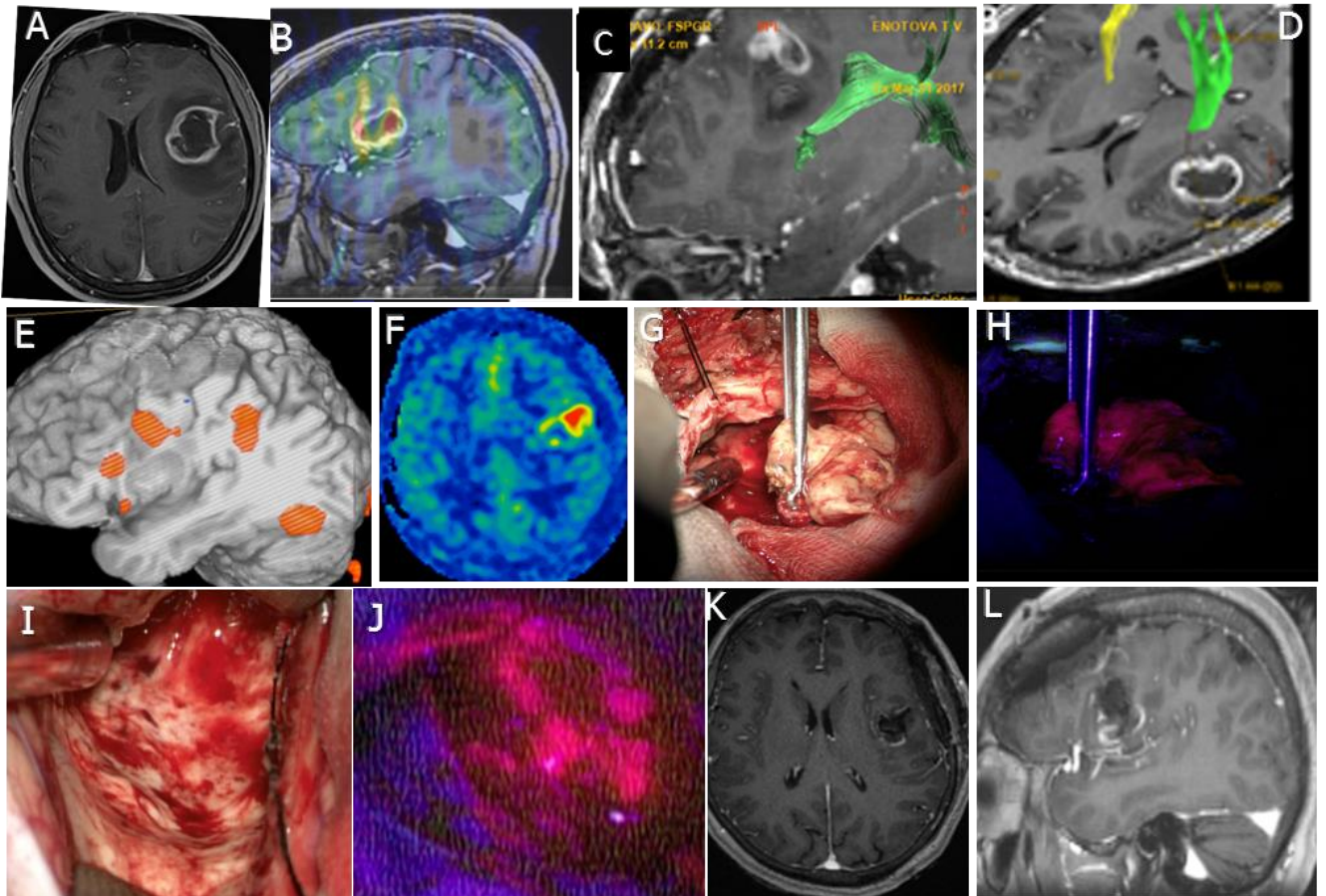


Рисунок 52 – клиническое наблюдение 16. А - МРТ с контрастированием аксиальный срез, T1 режим с контрастированием, В - МРТ до операции с контрастом, сагиттальный срез в T1 режиме, С – МРТ- трактография аркуатного пучка, находится вблизи опухоли, часть волокон в лобной порции тракта не простираются (зона отека-инфильтрации), D - МРТ трактография с построением пирамидного тракта, тракт вне опухоли, Е - дооперационное обследование с выполнением фМРТ (картирована зона Брока), F- ASL перфузия показывает повышенный кровоток у опухоли, в центре), расположена над опухолью. G - интраоперационная фотография в белом свете при удалении основного узла опухоли, H - интраоперационная фотография в режиме BL 400, основной узел опухоли ярко флуоресцирует, I – интраоперационная фотография в белом свете - вид полости после удаления основной части опухоли, при электрической стимуляции в ложе получены нарушения речи в виде пересевераций, резекция остановлена, J – интраоперационная фотография в режиме BL 400, отмечается остаточная флуоресценция в ложе в зоне инфильтрации., K - послеоперационное МРТ в T1 режиме с контрастированием – субтотальное удаление контрастируемой части опухоли, аксиальный срез, L - послеоперационное МРТ в T1 режиме с контрастированием – субтотальное удаление контрастируемой части опухоли, сагиттальный срез.

Клиническое наблюдение 17

М., 40 лет. Сочетанное применение флуоресцентной диагностики и нейрофизиологического картирования речи при хирургии «с пробуждением» у пациента с анапластической астроцитомой левой лобной доли. На дооперационной МРТ в T2 FLAIR режиме до операции, отмечается четкая граница между опухолью и мозговой тканью. Произведено картирование коры мозга в условиях пробуждения: книзу и несколько кпереди от опухоли выявлена корковая зона, при которой отмечались нарушения речи по типу моторной афазии – предположительно задние отделы нижней лобной извилины и нижние отделы прецентральной извилины (что соответствовало данным фМРТ с выявленной на ней зоной Брока). При первом включении флуоресцентного режима выявлено слабое свечение опухоли, выходящей на кору мозга. Начато удаление опухоли в условиях краниотомии в сознании. Проведено картирование корковых зон речи и аркуатного пучка: непрерывное речевое тестирование (спонтанная и автоматизированная речь): во время удаления опухоли с использованием непрерывной монополярной стимуляции с корпуса (наружной поверхности) аспиратора: на глубине около 3 см: отмечались нарушения речи. Удаление флуоресцирующего остатка опухоли далее не проводилось ввиду опасности нарастания необратимых речевых расстройств после операции вследствие пересечения волокон лобной порции дугообразного пучка. Эти данные соответствовали МР-трактографии с выявленным на ней дугообразным пучком. В этом месте был оставлен небольшой фрагмент опухоли. Отмечается слабая остаточная флуоресценция опухоли. На послеоперационной МРТ достигнута GTR 90% (Рисунок 53).

В послеоперационном периоде у больного отмечались явления сочетанной афазии височного (акустико-мнестическая) и лобного типов (персеверации). Речевые нарушения полностью регрессировали на фоне занятий с логопедом через 3 недели после операции. Гистология: Морфологическая картина и иммунофенотип соответствует диффузной астроцитоме. WHO grade II с тенденцией к III (IDH 1+).

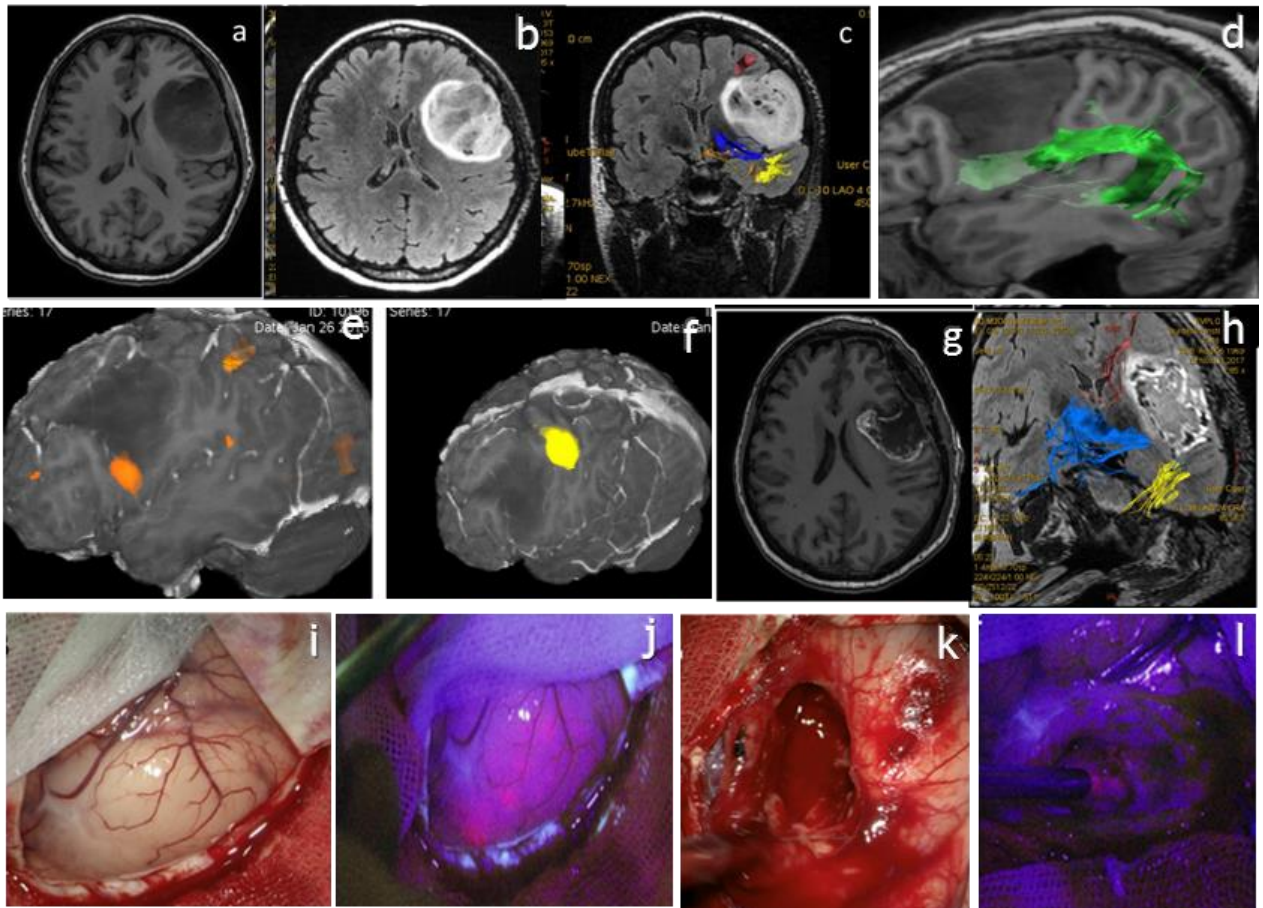


Рисунок 53 - М., 40 лет, клиническое наблюдение 17. А - МРТ аксиальный срез до операции в T1 режиме, В – аксиальный срез в T2 FLAIR режиме до операции, С – коронарный срез в T2 FLAIR режиме до операции с длинными ассоциативными трактами, D – МРТ до операции, сагиттальный срез с аркуатным трактом, Е- функциональная МРТ до операции, в передне-нижнем полюсе опухоли выявляется зона Брока, F – функциональная МРТ до операции, в заднем полюсе опухоли выявляется корковая моторная зона плеча, G – МРТ с контрастом после операции в первые 48 часов, аксиальный срез, H – МРТ после операции в первые 48 часов в T2 FLAIR режиме, коронарный срез, с длинными ассоциативными трактами (вне опухолевого ложа), I – интраоперационная фотография коры – вид в белом свете, J - интраоперационная фотография коры – вид в режиме BL 400, отмечается слабо-розовая флуоресценция пораженной опухолью коры левой лобной доли, K – интраоперационная фотография: этап резекции опухоли, вид полости на этапе резекции в белом свете L - этап резекции опухоли, вид полости на этапе резекции во флуоресцентном режиме BL 400, отмечается слабо-розовая флуоресценция остаточной части опухоли.

Таким образом, несмотря на остаточную флуоресценцию у пациента с анапластической астроцитомой левой лобной доли, резекция опухоли была

приостановлена ввиду появления речевых нарушений при удалении основной массы опухоли (которые были получены при стимуляции монополярным стимулятором в ложе волокон аркуатного тракта).

Резюме главы 6

Локализация глиом вблизи двигательных и речевых зон мозга не является противопоказанием к применению ФД при условии нейрофизиологического мониторинга. В хирургии данных опухолей нами описаны различные варианты соотношения флуоресцирующего остатка опухоли и локализации функциональных зон (трактов) – полное совпадение (при диффузном свечении – тип 1), частичное совпадение (при фокусном свечении – тип 2) и несовпадение функциональной зоны и светящейся части опухоли (тип 3).

Из 28 наблюдений с картированием зон речи на коре мозга яркая флуоресценция отмечалась в 10 наблюдениях (все – глиобластомы), слабая в 4 случаях (из них 3 – глиомы Grade II) и отсутствовала – в 14 случаях картированных пациентов (50%), при этом половина этих наблюдений составили опухоли Grade II (7 человек). По нашему опыту, успех картирования речевых зон коры при краниотомии в сознании составляет 28/40 пациентов (70%), длинных ассоциативных трактов – (аркуатный пучок, лобный кривой тракт) – 12/40 (30)%. В нашей работе значительно чаще удавалось идентифицировать речевой центр Брока (82%) относительно зоны Вернике (18%). Стойкие речевые нарушения в позднем послеоперационном периоде после краниотомии в сознании не превышали 8%.

У 12 пациентов с глиомами доминантного полушария (левой лобной доли) в ходе операций с флуоресценцией были картированы длинные ассоциативные тракты (лобный кривой и аркуатный тракты). В ходе этих операций несмотря на наличие остаточной флуоресценции у 6 пациентов при появлении речевых нарушений в ходе резекции (в связи с раздражением аркуатного тракта) последняя останавливалась. Таким образом, выполнялась безопасная резекция инфильтративной зоны глиобластом, обладающей выраженным флуоресцентным эффектом до достижения зоны длинных ассоциативных трактов в глубине

операционной раны. При этом остаточное свечение в операционной полости было выраженным. Однако, продолжение резекции опухоли было невозможно ввиду опасности повреждения инфильтрированных глиомой длинных ассоциативных трактов мозга у 6 пациентов (15% наблюдений), однако у 35% пациентов с локализацией глиом в речевых зонах и у 41% - в двигательных зонах резекция флуоресцирующей части опухоли была возможна ввиду ее несовпадения с функциональной зоной в операционной полости.

Таким образом, метаболическая навигация и краниотомия в сознании не противоречат, а дополняют друг друга: флуоресценция показывает хирургу границы опухоли, а электростимуляция при пробуждении – границы функциональных зон мозга, что соответствует данным других авторов [123]. Это позволяет достичь оптимального онко-функционального баланса при резекции опухоли.

Глава 7 Исходы хирургического лечения у пациентов со злокачественными глиомами головного мозга, оперированными с использованием метаболической навигации

7.1 Анализ неврологической симптоматики после операции

В группе пациентов с глиомами, оперированными с применением 5-АЛК (220 пациентов), увеличение индекса Карновского отмечалось у 50 (22,7%), у 26 (11,9%) произошло снижение индекса Карновского после операции, у 144 (65,4%) он остался на дооперационном уровне. Невысокий процент пациентов со снижением индекса Карновского можно объяснить преобладанием в нашей группе пациентов с полушарными глиомами, локализованными вне функционально значимых зон мозга.

Летальность в ближайшем послеоперационном периоде: составила 4 пациента с большими злокачественными глиомами головного мозга (1,25%) – два пациента с большими полушарными глиобластомами, инфильтрирующими глубинные структуры полушария (мозолистое тело и базальные ганглии) скончались в раннем послеоперационном периоде в связи с диффузным отеком головного мозга, у 1 пациента с глиобластомой левой височной доли на фоне коагулопатии отмечалось развитие послеоперационной гематомы. Больному была выполнена ревизия раны, удаление гематомы, однако в дальнейшем наблюдалось развитие менингита, пневмонии и полиорганной недостаточности, что послужило причиной летального исхода. Один пациент с анапластической астроцитомой скончался в течении первых 7 суток от ТЭЛА.

Побочные действия препарата 5-АЛК в нашей группе были выявлены у 12 пациентов и носили легкую степень выраженности (3%): транзиторное повышение ферментов печени (5 человек), повышенная чувствительность кожи к свету (4 человека), тошнота (3 человека).

При анализе гемипарезов после моторной стимуляции у пациентов с

глиомами головного мозга с использованием 5-АЛК было выявлено 124 пациента (в данной выборке использованы только наблюдения с обязательным применением флуоресценции и фиксацией данных нейрофизиолога в дополнительном протоколе нейрофизиологической группы в периоде с 2016 по 2018гг). Из них у 28 пациентов (22,6%) были выявлены моторные зоны (5 – моторная кора и 23 – волокна пирамидного тракта). У остальных 96 пациентов моторные зоны при операциях с ФД не найдены. При анализе послеоперационных гемипарезов его нарастание отмечено в 13 случаях в наблюдаемой группе (или в 10,5% случаев), стойкий гемипарез отмечался у 8 пациентов (6,5%).

При анализе динамики речевых нарушений из 40 пациентов с глиомами доминантного по речи полушария, оперированными с применением метаболической навигации и краниотомии в сознании, у 25 пациентов в раннем послеоперационном периоде (первые 7 суток) отмечалось нарастание афатических нарушений (62,5%), из них у 11 из 12 пациентов с картированными волокнами длинных ассоциативных трактов (преимущественно, аркуатного пучка и лобного косоугольного пучков) отмечены нарушения речи в первые 7 суток после оперативных вмешательств (91,6%). У подавляющего числа пациентов (90%) данные нарушения являются транзиторными и регрессировали в течении 3 месяцев после операции, что соответствует данным мировой литературы (Duffau et al., 2014).

7.2 Анализ выживаемости пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с применением метаболической навигации

Для изучения катамнеза проведено письменное анкетирование с использованием у 144 пациентов с глиомами головного мозга, оперированными с применением 5-АЛК в 2013-2016гг. Ответы получены от 95 (66%) пациентов. Данные об общей выживаемости доступны для 49 пациентов, а о безрецидивной выживаемости – для 43 человек в исследуемой группе. На основании полученных данных построены кривые выживаемости Каплана-Майера для общей и безрецидивной выживаемости (Рисунок 54).

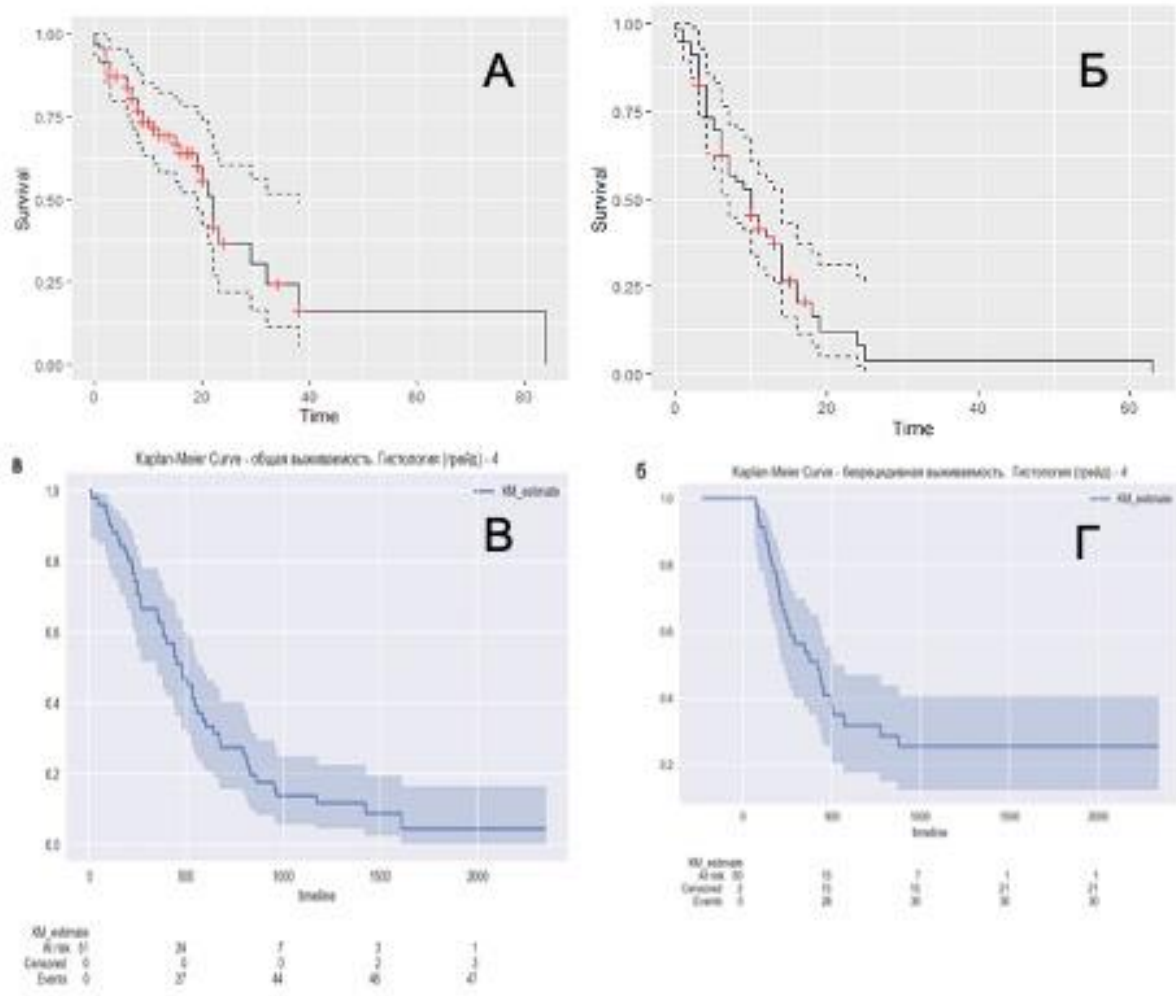


Рисунок 54 - Кривые Каплана-Майера для общей выживаемости всех пациентов с глиобластомами, оперированными с 5-АЛК (А), для безрецидивной выживаемости всех пациентов с глиобластомами, оперированными с 5-АЛК (Б), общей выживаемости пациентов с глиобластомами, локализованных вблизи ФЗЗ, оперированными с 5-АЛК (В) и безрецидивной выживаемости пациентов с глиобластомами, локализованных вблизи ФЗЗ, оперированными с 5-АЛК (Г) .

Медиана общей выживаемости при глиобластомах, оперированных с 5-АЛК, составила 22 месяца, медиана безрецидивного периода - 10 месяцев, что соответствует данным мировой литературы. Для анапластических глиом медиана безрецидивного периода составила около 20 мес., медиана общей выживаемости для глиом Grade III не достигнута (Рисунок 55).

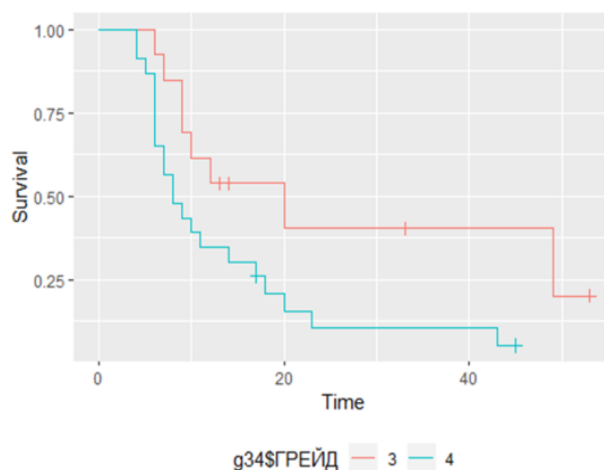


Рисунок 55 - Безрецидивный период для глиом Grade III/IV, анализ по Каплану Майеру. Медиана безрецидивного периода для глиом Grade III составляет 20 мес., для глиом Grade IV – около 10 мес.

Максимальная глубина катамнеза 4,5 года. Медиана общей выживаемости у пациентов с глиобластомами, расположенными в ФЗЗ, составила 15,6 месяцев. Медиана безрецидивной выживаемости для глиом, расположенных в функционально значимых зонах, составила для grade III составила 26,4 месяца, для глиобластом – 13,9 месяцев.

Шестимесячная и 12-ти месячная безрецидивная выживаемость составила для глиом grade III – 97% и 77%; для глиобластом – 78% и 53%.

Шестимесячная и 12-ти месячная общая выживаемость составила для глиобластом составила 84% и 65%.

При анализе безрецидивной выживаемости пациентов со злокачественными глиомами (Grade III-IV) показана достоверная связь с объемом опухоли в режиме T2-FLAIR до операции (Wald test - различия статистически значимы ($p = 0.0334531$), Likelihood ratio test - различия статистически значимы ($p = 0.034744$), Score (logrank) test - различия статистически значимы ($p = 0.031813$)).

Результаты связи объема опухоли в режиме FLAIR после операции и показателей безрецидивной выживаемости: Wald test - различия статистически значимы ($p=0,0026331$); Likelihood ratio test - различия статистически значимы

($p=0,0028352$); Score (logrank) test - различия статистически значимы ($p=0,0018694$).

При анализе влияния вовлечения опухоли функционально значимой зоны на общую и безрецидивную выживаемость в группе злокачественных глиом также не получено значимой взаимосвязи (Wald test - различия статистически не значимы ($p = 0.6440565$), Likelihood ratio test - различия статистически не значимы ($p = 0.6463373$) и Score (logrank) test - различия статистически не значимы ($p = 0.6436199$) - (Рисунок 56).

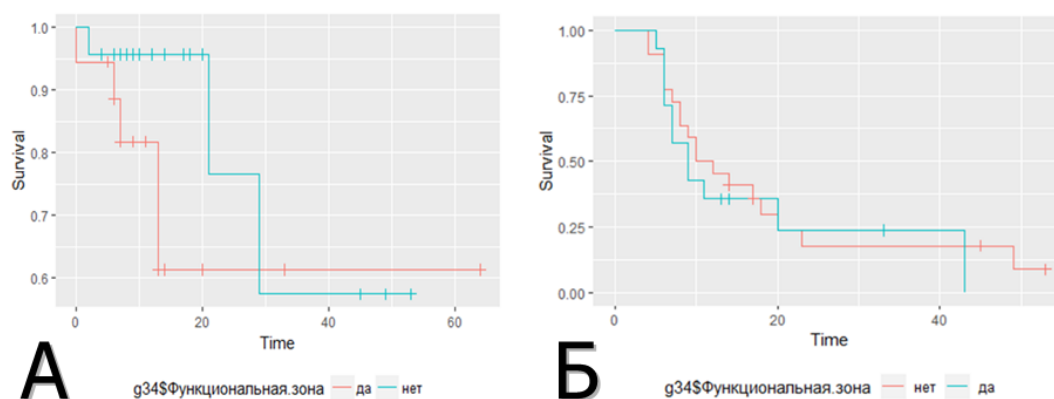


Рисунок 56 - Кривые Каплана-Майера у пациентов с глиомами Grade III-IV с нахождением опухоли в и вне функционально значимых зон (А – общая выживаемость, Б – безрецидивная выживаемость).

В конце оперативного вмешательства остаточное свечение выявлено у 11 пациентов, отсутствовало у 43 пациентов с известным катамнезом. Результаты сравнения различий в указанных на графике подгруппах: Wald test Likelihood ratio test Score (logrank) test - различия статистически не значимы ($p = 0.0745082$). Таким образом, остаточная флуоресценция не влияла на общую выживаемость у пациентов с глиомами головного мозга, оперированных с применением метаболической навигации (Рисунок 57).

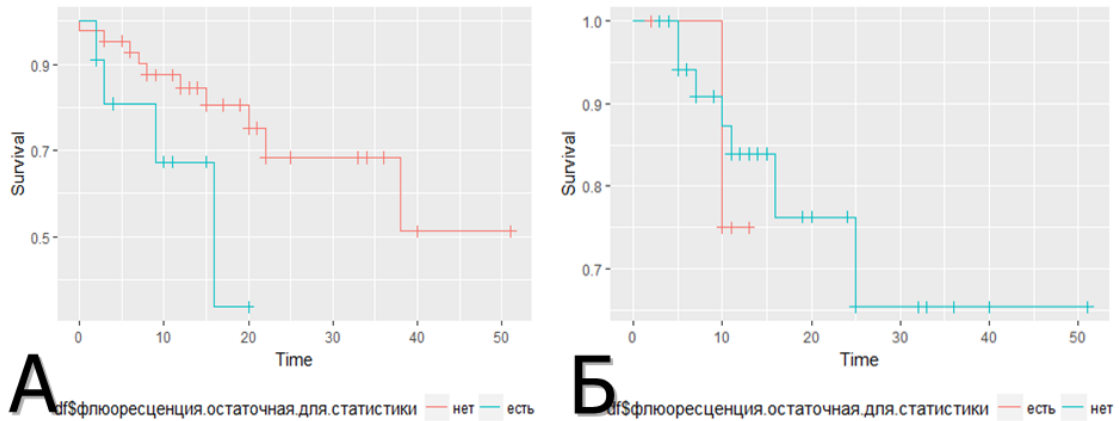


Рисунок 57 - Влияние остаточной флуоресценции опухоли на общую (слева) и безрецидивную выживаемость (справа). Wald test - различия статистически не значимы ($p = 0,8684712$).

Следующим этапом выполнено сравнение общей выживаемости у пациентов с глиобластомами с ярким ($n=51$) и слабым/отсутствующим свечением ($n=16$). Результаты сравнения различий в указанных на графике подгруппах: Wald test - различия статистически не значимы ($p = 0,9240724$).

Таким образом, в хирургии глиобластом степень выраженности флуоресценции не влияла на сроки общей выживаемости после операции (Рисунок 58).

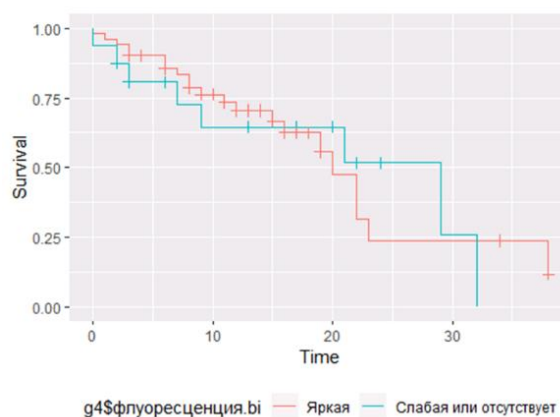


Рисунок 58 - Сравнение медиан общей выживаемости у пациентов с глиобластомами в зависимости от степени флуоресценции: различия статистически не значимы.

В результате изучения катамнеза оперированных пациентов со злокачественными глиомами с использованием 5-АЛК, выявлено, что медиана общей выживаемости для наиболее многочисленной подгруппы пациентов с глиобластомами составила 22 мес., медиана безрецидивного периода – 10 мес.

На оба показателя выживаемости значимо не влияли: 1) наличие или отсутствие остаточного свечения опухоли, 2) степень выраженности свечения опухоли, 3) инвазия опухолью функционально значимых зон мозга. В тоже время, Grade опухоли, ее объем в T2-FLAIR режиме до и после операции значимо влияли на сроки безрецидивной выживаемости в подгруппе злокачественных глиом, оперированных с использованием метода метаболической навигации.

Клиническое наблюдение 18

М., 54 лет, использование метаболической навигации при рецидиве глиобластомы у пациента с феноменом «долгожительства». Пациент М., 54 лет, 28.05.07 года был прооперирован по поводу глиобластомы теменно-затылочной области правого полушария головного мозга. В анамнезе – в течение трех месяцев нарастающая по интенсивности головная боль. На момент операции - удовлетворительное состояние, минимальная неврологическая симптоматика в виде оживления сухожильных рефлексов слева и начальные признаки внутричерепной гипертензии с умеренно полнокровными венами на глазном дне. Статус по шкале Карновского 90. На рисунке представлены данные МРТ головного мозга без контрастного усиления от 27.04.07, на которой выявляется внутримозговая опухоль правой теменно-затылочной области с кистозным компонентом. Данные гистологического исследования: глиобластома, IDH1 отрицательная по иммуногистохимическому анализу. Несмотря на рекомендации проведения локальной лучевой терапии в режиме классического фракционирования, пациенту по месту жительства провели облучение всего головного мозга и три курса химиотерапии темозоломидом. После чего в течение восьми лет больной не проходил обследование в Институте. В августе 2015 года у него появился левосторонний умеренно выраженный гемипарез. При МРТ

головного мозга от 08.08.15 года выявлено объемное образование в правой височно-затылочной области с выраженным масс-эффектом и накоплением контрастного вещества – локальный рецидив опухоли (рисунок 108). Безрецидивный период составил 98 месяцев. Сохранялось общее удовлетворительное состояние (по шкале Карновского 80 баллов).

10.08.15 года выполнена повторная операция - субтотальное удаление опухоли в правой теменно-затылочно-височной области с использованием флуоресцентной микроскопии и нейрофизиологическим контролем. Результат повторной биопсии - глиосаркома (IDH1 отрицательная). В послеоперационном периоде отмечался частичный регресс левостороннего гемипареза. С учетом значительного объема остатков опухоли лучевая терапия на момент выписки не была показана, и пациенту было рекомендовано начать лечение с проведения химиотерапии темодалом и карбоплатином. Было проведено 4 курса полихимиотерапии (завершена в апреле 2016 г.), которую пациент самостоятельно прекратил. При МРТ головного мозга от 27.06.16 г. – выраженная прогрессия опухоли с масс-эффектом и распространением на противоположное полушарие. Несмотря на изменение схемы химиотерапии на Авастин, пациент скончался в октябре 2016 года через 113 месяцев после постановки диагноза (9,5 лет), 14 месяцев – после удаления рецидива (Рисунок 59).

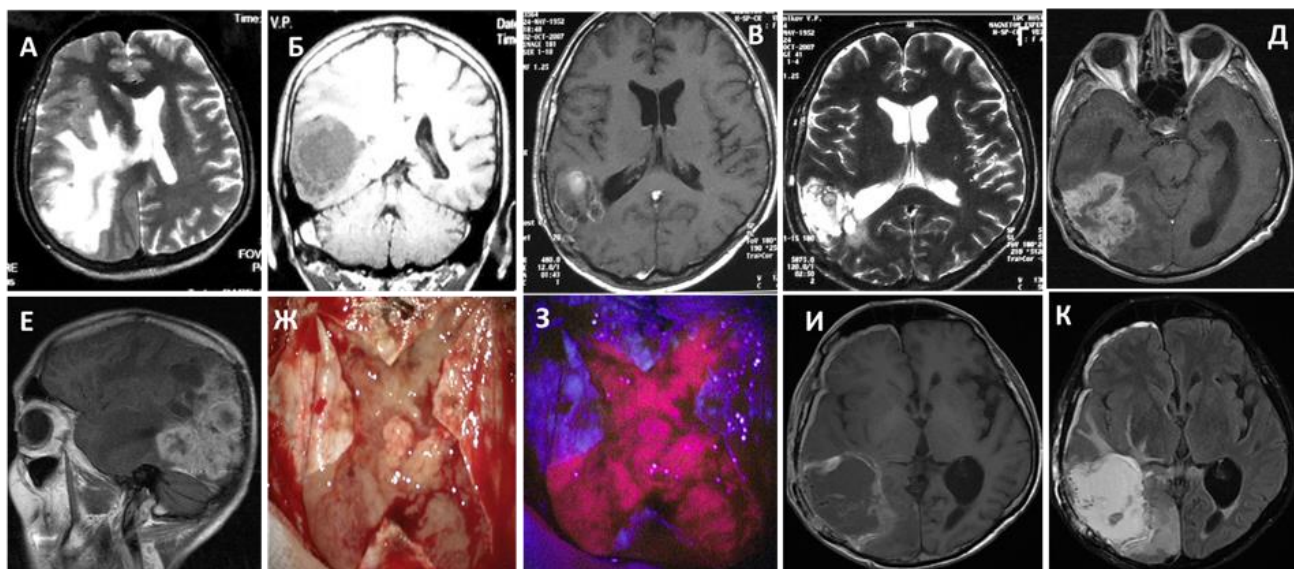


Рисунок 59 - М., 54 лет, клиническое наблюдение 18. А: предоперационные МРТ-снимки от 2007 года: визуализируется внутримозговая опухоль правой теменно-затылочной области (T2-FLAIR аксиальный срез), Б - предоперационная МРТ от 2007г в режиме T1, коронарный срез, В - послеоперационные МРТ-снимки от 2.10.2007 года: визуализируются послеоперационные изменения (T1 аксиальный срез с контрастированием), Г – МРТ после первой операции (2007г), T2-FLAIR аксиальный срез, Д- предоперационные МРТ-снимки от 8.08.2015 года: визуализируется рецидив глиобластомы в зоне предшествующей операции - аксиальный срез в режиме T1 с контрастированием, Е – сагиттальный срез в T1 режиме с контрастированием, Ж – интраоперационная фотография в белом свете, З - отмечается яркая флуоресценция опухоли во время операции (как и при первой операции – глиобластома). И - послеоперационные МРТ-снимки от 11.08.2015 года: визуализируется полость после повторной операции субтотального удаления рецидивной глиобластомы, МРТ в T1 режиме с контрастированием, К –МРТ после повторной операции, аксиальный срез в режиме T2-FLAIR.

Данное наблюдение показывает значимость клинико-демографических факторов: относительно молодой возраст (54 года), высокий индекс функционального состояния и полушарная локализация опухоли. Несмотря на несоблюдение рекомендаций и несоответствие адъювантного лечения существующим стандартам, отмечен длительный безрецидивный период в течение 98 (!) месяцев состояние больного оставалось удовлетворительным.

7.3 Анализ объемов резекции по данным МРТ у пациентов с глиомами, оперированными с применением метаболической навигации

МРТ волюметрия с определением объема резекции выполнена у 62 пациентов в первые 48 часов после резекции опухолей. Не накапливали контраст 17 глиом (27,4%), накапливали – 45 (72,6%). Исследована радикальность операций у пациентов со злокачественными глиомами как в T1 режиме (контрастируемая часть опухоли), так и в T2-FLAIR режиме (неконтрастируемая часть опухоли). В результате выявлено несоответствие объемов резекций по данным МР волюметрии у пациентов со злокачественными глиомами в T1 и T2-FLAIR режимах (Таблица 28).

Таблица 28 - Несоответствие данных о радикальности удаления злокачественных глиом по T1 и T2-FLAIR режимам.

T1 ВИ	открытая биопсия T2	Парциальная T2-FLAIR	Субтотальная T2-FLAIR	Тотальная T2-FLAIR
Не накапливает контраст T1	6	2	7	2
Открытая биопсия T1	4	0	0	0
Парциальная T1	2	1	1	0
Субтотальная T1	3	2	0	0
Тотальная T1	12	14	2	2

В таблице 35 в левом столбце указаны объемы резекций контрастируемой части опухоли в T1 режиме МРТ, в остальных вертикальных столбцах правее – в T2-FLAIR режиме МРТ. Тотальное удаление расценивалось как объем резекции более 90% от исходного, субтотальное – 75-90% от исходного, парциальное – 50-75% от исходного и открытая биопсия – менее 50% от исходного объема. Для оценки радикальности оперативных вмешательств по отношению к контрастируемой части опухоли использована шкала McDonald (1990): тотальная резекция считалась при удалении более 90% объема контрастирующейся части глиомы, субтотальная – не менее 75%, парциальная – от 50 до 75%, открытая биопсия – менее 50%.

Количество тотальных и субтотальных резекций контрастируемой части глиом (по данным МРТ в T1 режиме с контрастированием) – было 35/45 (77,8%), однако, из них только 4 глиомы в T2-FLAIR режиме также были удалены в аналогичном объеме (4/35 или 11,4% совпадений волюметрических оценок между двумя режимами МРТ).

Средний объем опухоли до операции у пациентов с тотальной/субтотальной резекцией, по данным МРТ в режиме SPGR, составил 43,24 см³. Парциальная резекция в T1 режиме (контрастируемая часть) отмечалась у 5/45 (11,1%) пациентов, открытая биопсия – у 4/45 (8,9%).

Тотальное удаление опухоли в T1 режиме совпало с таким же тотальным удалением в T2-FLAIR только у 2 пациентов, еще у 2 пациентов тотальная резекция в T1 режиме оказалась субтотальной в T2 режиме. Из 35 пациентов с тотальной/субтотальной резекцией злокачественных глиом в T1 режиме у 14 (40%) резекция оказалась парциальной, а у 15 (42,9%) – выполнена в объеме открытой биопсии в T2-FLAIR режиме.

Медиана контрастируемой части опухоли до операции в режиме SPGR составила 58,3 см³, неконтрастируемой – в режиме T2-FLAIR – 107,9 см³ (соотношение частей 1:1,85). Средний объем опухоли в режиме T2-FLAIR, по данным дооперационной МРТ, для неконтрастирующихся глиом составил 69,24 см³. Объем остатка опухоли в режиме FSPGR варьировал от 0 до 43,06 см³, медиана составила 0,9 см³ (25% - 0 см³, 75% - 4,82 см³). Объем остатка опухоли в режиме FLAIR варьировал от 0 до 183,81 см³, медиана составила 45,6 см³ (25% - 14,69 см³, 75% - 79,2 см³) - (Рисунок 60).

Таким образом, необходима волюметрическая оценка резекции злокачественных глиом как в T1 (контрастируемая часть), так и в T2-FLAIR режимах МРТ (неконтрастируемая часть), выполненных с контрастированием в первые 48 часов после оперативного вмешательства, поскольку в 88,6% наблюдений отмечается разница между объемами резекций опухоли в T1 и T2 режимах послеоперационной МРТ для контрастируемой и неконтрастируемой частей глиомы.

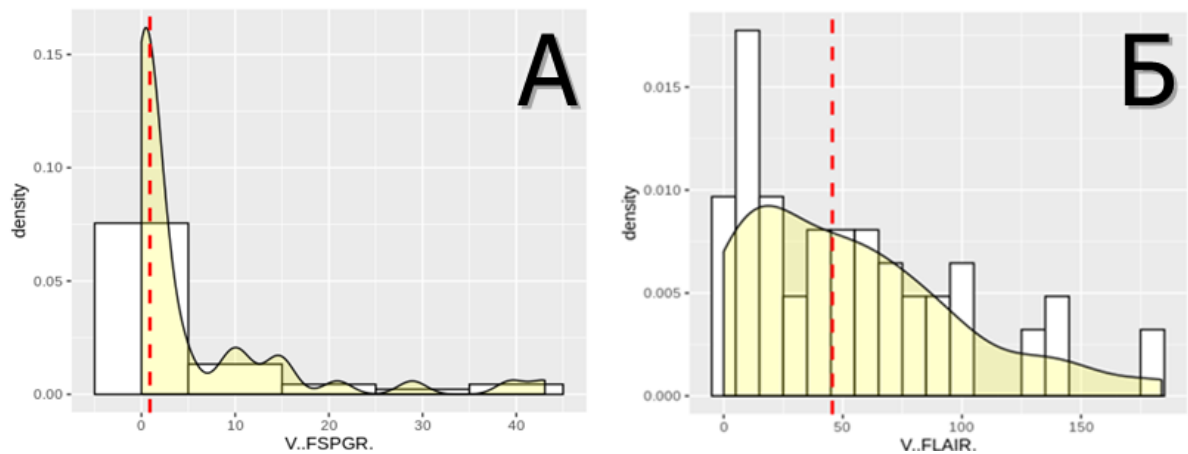


Рисунок 60 - Распределение остаточного объема глиом в режиме SPGR (для контрастирующейся части) - А, и для режима T2 FLAIR (для всех глиом) - Б.

Видно несоответствие остатков опухоли в обоих режимах.

При исследовании влияния интенсивности свечения глиомы на объем остаточной контрастирующейся части опухоли, выполненное у 44 пациентов, выявлено, что она достоверно коррелировала с объемом остатка опухоли в режиме SPGR, что связано с большим объемом контрастирующейся части флуоресцирующих опухолей относительно нефлуоресцирующих, по данным дооперационной МРТ (для анализа применялся тест Манна-Уитни, различия статистически значимы ($p = 1.709961610^{-5}$)). По данным послеоперационной МРТ в T1 режиме с контрастированием ярко флуоресцирующие глиомы имели больший объем остаточной контрастируемой части, чем слабо или умеренно флуоресцирующие (прежде всего, за счет изначально большего дооперационного объема опухолей). Для анализа применялся тест Манна-Уитни. Различия статистически значимы ($p = 0.0171229$), Рисунок 61.

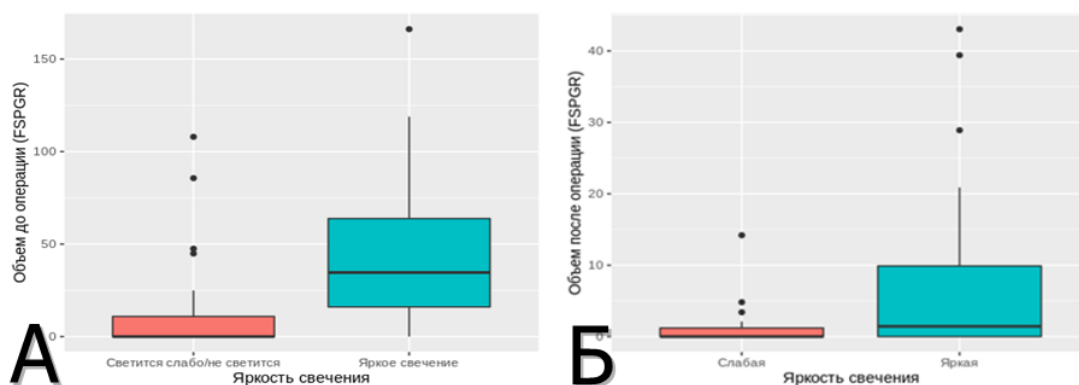


Рисунок 61 - А: средний объем ярко флуоресцирующих опухолей в режиме SPGR до операции был значимо больше, чем нефлуоресцирующих или слабо флуоресцирующих. Б: в группе ярко флуоресцирующих глиом послеоперационный остаток опухоли в режиме SPGR (контрастируемая часть) был значимо больше, чем в группе нефлуоресцирующих или слабо флуоресцирующих.

Таким образом, интенсивность свечения опухоли прямо коррелировала с объемом остатка, по данным послеоперационной МРТ, в режиме SPGR, что связано с большим дооперационным объемом флуоресцирующих опухолей относительно нефлуоресцирующих или слабо флуоресцирующих в нашей выборке. При анализе связи факта свечения и объема остатка неконтрастируемой части опухоли в режиме T2-FLAIR выявлено, что в группе светящихся глиом остаток был больше. Для анализа применялся тест Манна-Уитни, однако, различия были статистически не значимы ($p = 0.0527503$). При этом можно отметить, что в данном случае отмечалась граница статистической значимости (тенденция).

7.4 Анализ немодифицируемых факторов, влияющих на объем резекции злокачественных глиом, оперированных с 5 АЛК (инвазия глубинных структур, локализация, контрастирование и дооперационный объем опухоли)

Инвазия глубинных структур мозга (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело) отмечалась у 18/62 (29%), ее отсутствие – у 44/62 (71%) пациентов. При

исследовании влияния инвазии глубоких структур мозга (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело) и объема остатка опухоли, по данным МРТ в режиме SPGR, для глиом Grade III-IV была установлена значимая связь между данными параметрами (табл, рис.). Для анализа различий использован критерий Манна-Уитни, различия статистически значимы ($p = 0.003164$) - (Таблица 29).

Таблица 29 - Связь инвазии глубоких структур мозга, по данным МРТ до операции, и остатка опухоли по данным МРТ в режиме SPGR после операции.

Инвазия	Всего пациентов	Среднее	Медиана	Минимум	Остаток FSPGR
да	17	22.5 ± 26.9	8.51	0	81.8
нет	27	7.8 ± 17.2	0.290	0	79.1

Таким образом, при поражении глубоких структур мозга, объем остатка опухоли, по данным МРТ, был значимо выше (Рисунок 62).

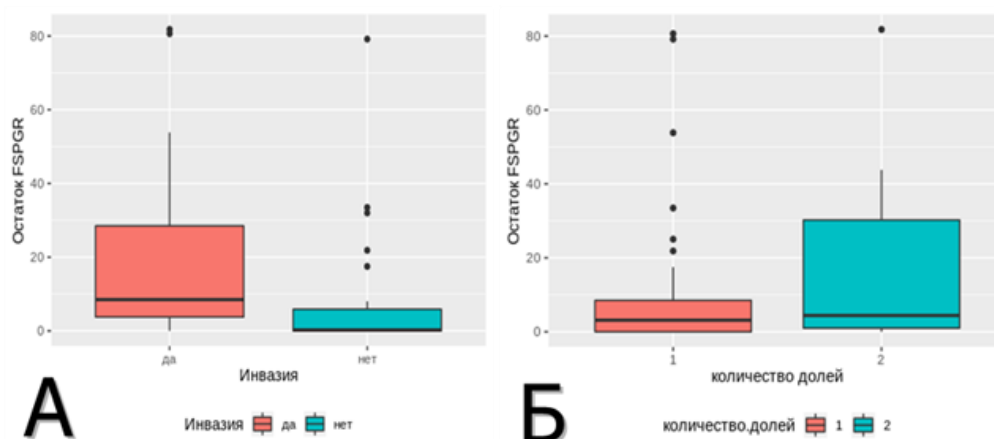


Рисунок 62 - Исследование связи инвазии глубоких структур мозга (таламус, подкорковые ганглии, мозолистое тело) и объема контрастирующегося остатка опухоли: отмечается достоверная взаимосвязь (А). Изучение влияния количества пораженных долей (одна/две) на объем контрастирующейся части опухоли: значимого влияния нет (Б).

Мы исследовали влияние количества долей мозга, пораженных опухолью на объем ее остатка после операции. Однодолевая локализация глиомы в нашей выборке отмечалась у 48 (77,4%) из 62 пациентов, двухдолевая локализация - у 13(21%) из 62, вовлечение трех долей - у 1 (1,6%) из 62.

Средний объем остаточной части опухоли при поражении одной доли у 33 пациентов составил $11,6 \pm 21,2 \text{ см}^3$, при поражении двух долей – $19,2 \pm 25,9 \text{ см}^3$ (11 человек). Для анализа применялся тест Манна-Уитни: различия были статистически не значимы ($p = 0.2289614$).

Следующим этапом изучено влияние локализации опухоли (относительно доли мозга) на объем ее остаточной части. При однодолевой локализации преобладала лобная доля – у 25/62 (40,3%), на втором месте по частоте – теменная доля – у 13/62 (21%), далее – височная- 9/62 (14,5%) и затылочная – у 1/62 (1,6%).

Мы провели исследование влияния локализации опухоли в лобной доле относительно других долей мозга (как наиболее частой) на объем остатка опухоли после операции. Для анализа применялся тест Манна-Уитни, различия были статистически значимы для контрастируемой части остатка опухоли ($p=6.01735110^{-5}$) – (Таблица 30).

Таблица 30 - Исследование взаимосвязи лобной локализации опухоли на объем ее контрастирующейся остаточной части после оперативного вмешательства.

Локализация	Общее число	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум
Лобная доля	17	0.5 ± 1.4	0	0	4.81
другие	28	8.5 ± 11.8	2.17	0	43.1

При исследовании аналогичной взаимосвязи для неконтрастируемой части остатка опухоли в режиме T2-FLAIR статистическая значимость не достигнута ($p = 0.116276$) – (Рисунок 63).

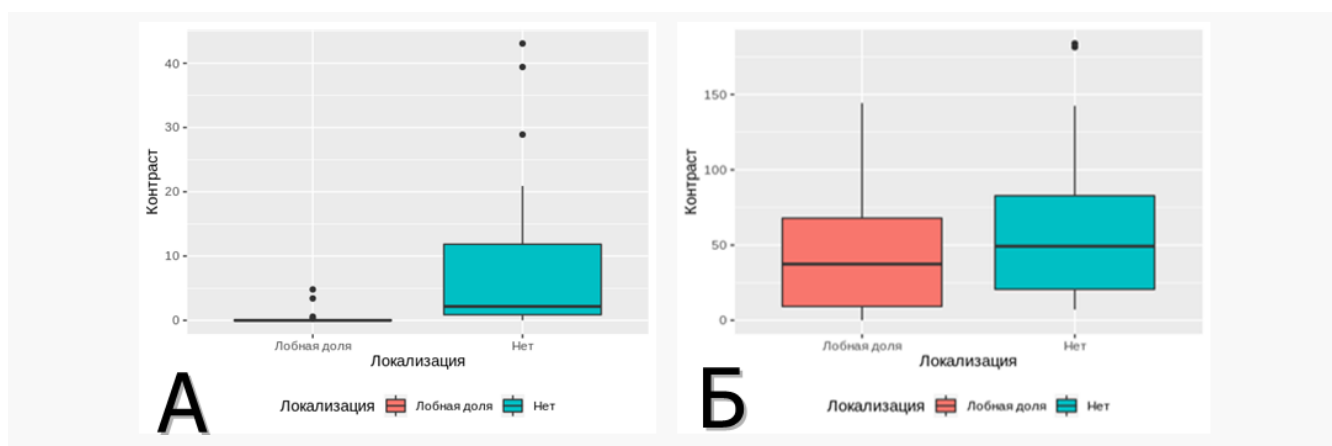


Рисунок 63 - Изучение влияния локализации глиомы лобной доли на остаток контрастируемой части опухоли: глиомы лобной доли оперировались радикальнее относительно других локализаций (А). Аналогичная взаимосвязь для неконтрастируемой части остатка опухоли в режиме T2 - FLAIR была статистически незначимой (Б).

Были изучены объемы остаточной части опухоли в режиме SPGR для всех основных локализаций по долям. Для анализа применялся тест Манна-Уитни. Различия статистически значимы ($p = 0.010608$), (Таблица 31).

Таблица 31 - Связь остаточных объемов глиом в режиме SPGR после операции с их локализацией по долям мозга.

Локализация	Общее число	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум
Висок	9	5.2 ± 5.9	2.22	0	14.6
Лоб	12	0.4 ± 1	0	0	3.41
Многодолевые	12	7 ± 12.1	1.82	0	43.1
Темя	11	10.2 ± 13.9	2.12	0	39.4

Таким образом, глиомы лобной доли были оперированы более радикально (минимальный остаточный объем). В тоже время, объем остаточных контрастируемой и неконтрастируемой частей при опухолях теменной доли был значимо максимальным, промежуточный – в височной и при многоочаговых

поражениях (Рисунок 64).

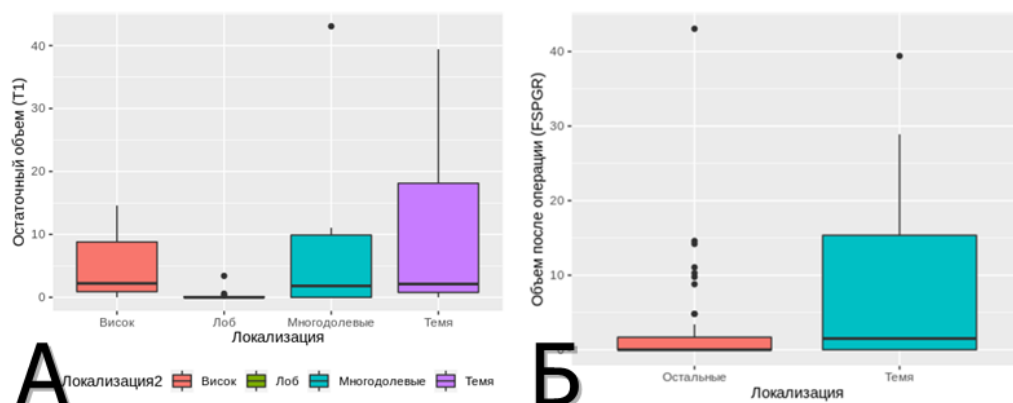


Рисунок 64 - А: связь остаточных объемов контрастируемой части глиом с их локализацией по долям. Б: объем контрастируемой остаточной части для глиом теменной доли был значимо большим, чем опухолей других локализаций.

При изучении влияния локализации опухоли в височной доле на объем остаточной части опухоли было выявлено значимое влияние только на контрастируемую часть опухоли. Для анализа применялся тест Манна-Уитни: для контрастирующейся части остатка различия статистически значимы ($p = 0.0175849$), для неконтрастирующейся части остатка различия статистически не значимы ($p = 0.4126072$) – (Рисунок 65).

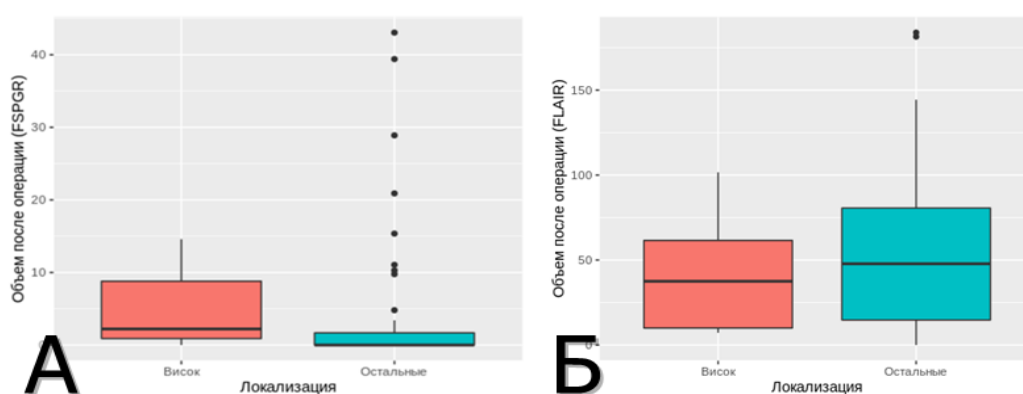


Рисунок 65 - При локализации опухоли в височной доле отмечался больший объем контрастируемой части остатка опухоли (А), для неконтрастируемой части взаимосвязь была незначимой (Б).

В результате использования логистической модели при анализе волюметрии было выявлено, что на объем резекции в группе глиом Grade III-IV достоверно не влияли такие факторы как: 1) сторона поражения (правая/левая), генетика (IDH 1+/-), сила свечения (яркое/неяркое), гистология (Grade III/IV; анапластическая астроцитома/олигодендроглиома). В то же время, на объемы остаточной контрастируемой и неконтрастируемой частей опухоли статистически значимо влиял ее предоперационный объем на МРТ в T1 режиме, и в большей степени, в T2-FLAIR режиме (Рисунок 66).

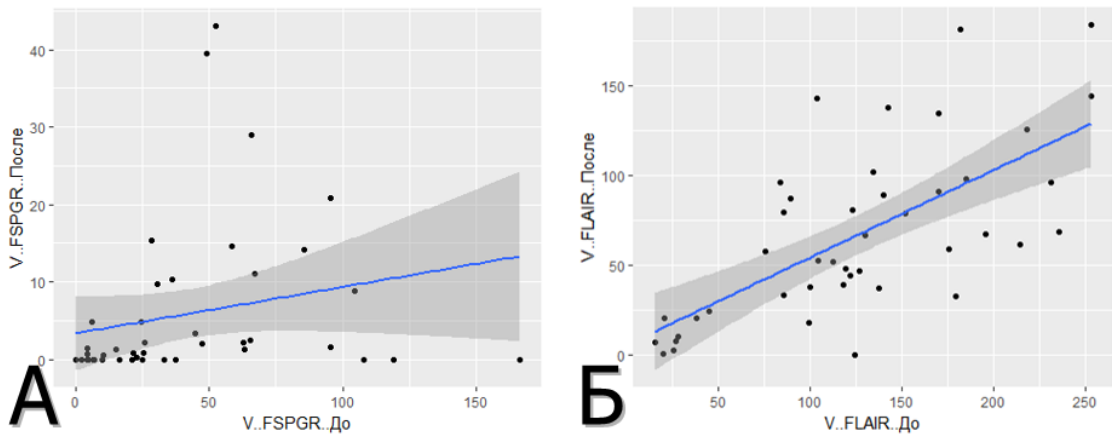


Рисунок 66 - Влияние дооперационного объема опухоли в T1 (А) и T2-FLAIR режимах (Б) на радикальность операции. Взаимосвязь статистически значима слева ($p = 0.0059589$) и справа ($p = 0$).

Таким образом, значимое влияние на послеоперационный остаточный объем опухоли по данным МРТ волюметрии с контрастированием имеет ее дооперационный размер в T1 и, особенно, в T2-FLAIR режимах.

Мы сравнили радикальность резекций для контрастируемых и неконтрастируемых, по данным дооперационной МРТ, глиом.

Для оценки остаточных объемов в подгруппе контрастируемых глиом использован только режим SPGR с контрастированием, а для оценки остаточных объемов в подгруппе неконтрастируемых глиом – режим T2-FLAIR в раннем послеоперационном периоде (48 часов) - (Таблица 32).

Таблица 32 - Сравнение остаточных объемов после резекции контрастирующихся и неконтрастирующихся глиом.

Глиома	Общее число	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум
неконтрастирующаяся	17	22.5 ± 20.7	14.7	0	66.6
контрастирующаяся	44	5.6 ± 10.1	1.06	0	43.1

Проведен анализ взаимосвязи между фактом контрастирования глиомы и объемом остатков опухоли после операции (Рисунок 67). Для анализа применялся тест Манна-Уитни, различия были статистически значимы ($p=5.30249510^{-5}$).

Таким образом, объем остатков в режиме T2-FLAIR для неконтрастирующихся глиом было значимо больше, чем объем остатков в режиме SPGR для контрастирующихся. Этот факт можно объяснить значительно более частым и ярким свечением опухолей и их лучшей визуализацией в подгруппе контрастирующихся глиом. В тоже время, неконтрастирующиеся глиомы, как правило, не имеют четкой границы с окружающей тканью мозга, и значительно реже флуоресцируют, что затрудняет их резекцию.

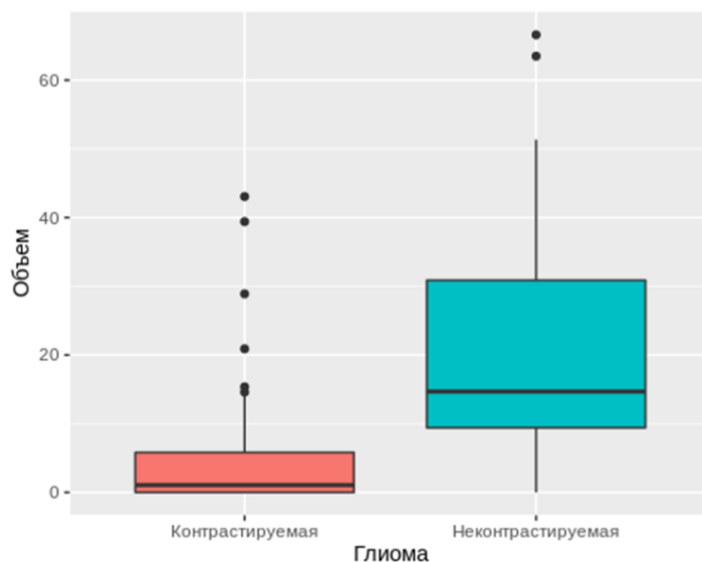


Рисунок 67 - Влияние факта контрастирования глиом на объем остатков. Остатки контрастирующихся глиом имели значимо меньший объем, чем неконтрастирующихся (соответственно в SPGR и FLAIR режимах).

Таким образом, при анализе немодифицируемых факторов, значимое влияние на радикальность операции оказали такие факторы, как:

- 1) локализация опухоли (наиболее радикальные операции выполнены при локализации в лобной доле, наименее – в теменной доле).
- 2) инвазия глубинных структур (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело)
- 3) факт контрастирования глиомы: остатки контрастирующихся глиом имели значимо меньший объем, чем неконтрастирующихся (соответственно в SPGR и FLAIR режимах).
- 4) объем контрастируемой и, особенно, неконтрастируемой частей опухоли, по данным дооперационной МРТ. Объем остатков в режиме T2-FLAIR для неконтрастирующихся глиом было значимо больше, чем объем остатков в режиме SPGR для контрастирующихся.

Более радикальные резекции контрастируемой части были выполнены в подгруппе контрастирующихся глиом, локализованных преимущественно в лобной доле, без инвазии глубинных структур мозга (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело) со средним объемом контрастирующейся части, по данным дооперационной МРТ, 43,24см³.

Парциальные резекции чаще отмечались у пациентов с любыми глиомами больших объемов (как в SPGR, так и особенно в режиме T2-FLAIR), у пациентов с неконтрастирующимися глиомами (в связи с плохим отличием границ опухоли от ткани мозга и значительно более редкой частотой флуоресценции), со средним объемом в режиме T2-FLAIR до операции 69,25см³, при их локализации в теменной или височной долях, с инвазией глубинных структур мозга (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело).

Подводя итог данной части работы, можно сказать, то при анализе контрастируемой части объема остатка в подгруппе злокачественных глиом, оперированных с использованием метода метаболической навигации в 77,8% случаев достигнуто или полное (тотальное) или субтотальное (более 75% объема контрастируемой части опухоли) удаление глиом. При этом, только у 11,4%

пациентов выявлено совпадение объемов остатка опухоли в T1 режиме (контрастируемая часть) и T2-FLAIR режиме (неконтрастируемая часть) на ранней послеоперационной МРТ. Таким образом, метаболическая навигация помогает нейрохирургу в удалении именно контрастирующейся части злокачественных глиом.

Резюме главы 7

В группе пациентов с глиомами, оперированными с применением 5-АЛК с 2008 по 2018гг (320 пациентов), увеличение индекса Карновского отмечалось у 73 (22,8%), у 38 (11,9%) произошло снижение индекса Карновского после операции, у 209 (65,3%) он остался на дооперационном уровне.

Медиана общей выживаемости при глиобластомах, оперированных с применением метаболической навигации, достигает 20 мес., безрецидивной – 10 мес. что соответствует данным мировой литературы на текущий момент. Объем опухоли в режиме T2-FLAIR до и после операции значимо влияет на сроки безрецидивной выживаемости в подгруппе злокачественных глиом. На оба показателя выживаемости значимо не влияли: наличие или отсутствие остаточного свечения опухоли, степень выраженности свечения опухоли.

Частота тотальных и субтотальных резекций злокачественных глиом, оперированных с применением метода метаболической навигации, составляет 77,8% (по данным МРТ с контрастированием в T1 режиме, выполненной в первые 48 часов после операции). При оценке радикальности оперативных вмешательств у пациентов со злокачественными глиомами в первые 48 часов целесообразно проводить оценку как контрастирующейся части опухоли (в T1 режиме МРТ с контрастированием), так и неконтрастирующейся части опухоли (в T2-FLAIR режиме МРТ). При этом частота несовпадений радикальности резекций между данными режимами составляет до 88,9%.

При анализе немодифицируемых факторов установлено, что более радикальные резекции контрастируемой части были выполнены в подгруппе контрастирующихся глиом, локализованных преимущественно в лобной доле, без

инвазии глубинных структур мозга (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело) со средним объемом контрастирующейся части, по данным дооперационной МРТ, до 43,24см³. Парциальные резекции чаще отмечались у пациентов с любыми глиомами больших объемов (как в SPGR, так и особенно в режиме T2-FLAIR), у пациентов с неконтрастируемися глиомами (в связи с плохим отличием границ опухоли от ткани мозга и значительно более редкой частотой флуоресценции) со средним объемом в режиме T2-FLAIR более 69,25 см³ при их локализации в теменной (значимое влияние на контрастируемый и неконтрастируемый объемы остатков) или височной долях (влияние только на контрастируемый объем остатков), при инвазии глубинных структур мозга (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело).

Увеличение сроков общей и безрецидивной выживаемости пациентов с глиобластомами с феноменом долгожительства (более 3 лет) связано не только с качеством и техникой выполненного первичного хирургического вмешательства, но и с другими факторами (локализацией опухоли, агрессивной и длительной химиолучевой терапией как после первой операции, так и при рецидивах, преобладанием локальных рецидивов над дистантными (68,75%), молодым возрастом пациентов, большим объемом неконтрастирующейся части опухоли по сравнению с контрастирующейся по данным дооперационной МРТ (1/2,5), умеренным индексом контрастирования (2,044) и значительным числом повторных резекций глиобластом при их рецидивах, достигающем до 40% случаев) [24].

Глава 8 Результаты применения метаболической навигации в хирургии интракраниальных менингиом

8.1 Общая характеристика флуоресцентного эффекта в хирургии интракраниальных менингиом.

8.1.1 Анализ видимой флуоресценции

Интраоперационная флуоресценция опухоли наблюдалась у 95 (94,05%) из 101 пациента. При визуальной оценке видимой флуоресценции через операционный микроскоп яркая флуоресценция отмечалась у 60 (63,15%) пациентов, умеренная — у 23 (24,2%) и слабая — у 12 (12,63%).

Медиана возраста больных для флуоропозитивных опухолей составила 56 лет (от 25 лет до 79 лет, $n=95$), для нефлуоресцирующих менингиом — 41,5 (от 38 лет до 59 лет, $n=6$), различия между группами по возрасту были статистически значимыми ($p=0,02$). Подробные данные с учетом локализации и гистологических подтипов исследуемых опухолей представлены в Таблице 33.

Таблица 33 - Распределение степени флуоресценции интракраниальных менингиом и их гистологии.

Характеристика	Все опухоли, абс. (%)	Из них флуоресцируют, абс. (%)	Степень флуоресценции, абс. (%)		
			сильная	средняя	слабая
Гистология					
WHO Grade I, из них:	78 (77)	75 (96,2)	44 (58,7)	21 (28)	10 (13,3)
смешанные	33 (42,3)	33 (100)	19 (57,6)	11 (33,3)	3 (9,1)
фибропластические	17 (21,8)	17 (100)	10 (58,8)	6 (35,3)	1 (5,9)
менинготелиоматозные	16 (20,5)	14 (87,5)	8 (57,1)	2 (14,3)	4 (28,6)
псаммоматозные	9 (11,5)	9 (100)	6 (66,7)	2 (22,2)	1 (11,1)
ангиоматозные	3 (3,8)	2 (66,7)	1 (50)	0 (0)	1 (50)
WHO Grade II (атипические)	21 (20,8)	18 (85,7)	14 (77,8)	2 (11,1)	2 (11,1)
WHO Grade III (анапластические)	2 (2)	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
Локализация опухоли					
Конвекситальные	23 (22,7)	22 (95,7)	16 (72,7)	3 (13,65)	3 (13,65)
Парасагиттальные	54 (53,5)	50 (92,6)	30 (60)	13 (26)	7 (14)
Передняя черепная ямка / средняя черепная ямка	11 (10,9)	10 (90,9)	6 (60)	3 (30)	1 (10)
Задняя черепная ямка	11 (10,9)	11 (100)	7 (63,6)	3 (27,3)	1 (9,1)
Внутрижелудочковые	2 (2)	2 (100)	1 (50)	1 (50)	0 (0)
Всего	101	95 (94,05)	60 (63,2)	23 (24,2)	12 (12,6)

8.2 Анализ факторов, влияющих на свечение опухоли

Проведенный метаанализ шансов флуоресценции в группах менингиом Grade I и Grade II—III в 10 ранее опубликованных работах других авторов и в нашей серии показал, что шансы флуоресценции в группах доброкачественных (Grade I) и злокачественных менингиом (Grade II—III) статистически не отличаются. Обобщенный показатель шансов флуоресценции в этих группах отношение шансов 1,14 (95% ДИ 0,59—2,19) - (Рисунок 68).

Взаимосвязи возраста и пола пациентов с частотой и выраженностью флуоресценции не выявлено ($p=0,64$ и $p=0,09$ соответственно).

Взаимосвязи между локализацией опухолей (конвекситальные/базальные менингиомы ($n=77/22$)) и фактом свечения, а также степенью свечения также не выявлено.

Статистически значимых различий между гистологическим подтипом опухоли (менинготелиоматозная/фибропластическая) и фактом свечения, а также степенью его выраженности не выявлено ($p>0,05$).

При сравнении менинготелиоматозных менингиом и всех остальных менингиом по частоте и выраженности свечения получены аналогичные результаты. Статистически значимых различий между характером оперативного вмешательства (первичная операция/продолженный рост опухоли) и фактом свечения, а также степенью его выраженности, не установлено.

Studies	Estimate (95% C.I.)	Fluo/Grade I	Fluo/Grade II-III
Kajimoto et al. 2007	1.000 (0.084, 11.931)	15/18	5/6
Collucia D. et al 2010	0.653 (0.028, 15.164)	24/26	7/7
Tan and Eijamel 2012	2.143 (0.072, 63.758)	22/23	3/3
Valdes P. et al 2014	0.270 (0.011, 6.462)	8/11	4/4
Puppa A. et al 2014	4.200 (0.066, 267.895)	10/10	2/2
Cornelius J. et al 2014	0.280 (0.012, 6.353)	17/19	12/12
Marbacher et al 2014	1.159 (0.338, 3.969)	73/94	12/16
Potapov A. et al 2016	5.130 (0.879, 29.953)	59/61	23/27
Overall ($I^2=NA$, $P=0.579$)	1.074 (0.477, 2.419)	228/262	68/77

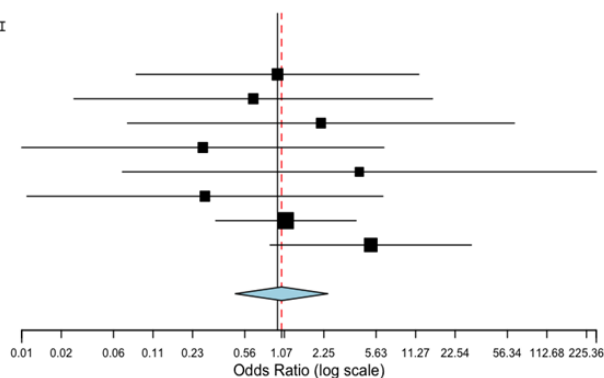


Рисунок 68 - Отношение шансов флуоресценции в подгруппах менингиом Grade I и Grade II—III.

При сравнении групп пациентов, получавших до операции противосудорожные препараты ($n=17$), предупреждающих эпилептические приступы, и не получавших их ($n=84$), по частоте свечения опухоли выявлена тенденция несколько более высокой частоты у пациентов без эпилептических приступов и без противосудорожного лечения ($p=0,058$). Этот факт требует дальнейшего анализа влияния конкретных противосудорожных препаратов, доз и длительности их применения на способность ПП IX оказывать флуоресцирующий эффект при интракраниальных менингиомах.

Назначение дексаметазона ($n=35$), независимо от дозы, не имело статистически значимой связи с появлением свечения и его интенсивностью ($p>0,05$). При анализе дозы принимаемого до операции дексаметазона и факта флуоресценции, а также степени ее выраженности, достоверной связи также не установлено. Наличие сахарного диабета и заболеваний ЖКТ также не имело статистически значимой взаимосвязи с частотой свечения и его степенью ($p>0,05$).

Выраженное интраоперационное кровотечение при удалении опухоли наблюдалось у 15 пациентов, незначительное — у 25. Более яркое свечение достоверно чаще наблюдалось при отсутствии кровотечения ($p=0,02$).

У нескольких пациентов наблюдались преходящие легкие явления фотосенсибилизации после операции, не требовавшие дополнительного лечения и регрессировавшие в течение 2 сут.

8.3 Флуоресценция гиперостозов при интракраниальных менингиомах

В нашей серии гиперостоз отмечался у 26 (25,7%) пациентов, при этом флуоресценция кости наблюдалась в 11 (42,3%) случаях — у 9 из 22 пациентов с менингиомами конвекситальной локализации и у 2 из 4 пациентов с опухолями краниобазальной локализации. Статистически значимых различий в интенсивности флуоресценции мягкотканной части опухоли при инвазии кости ($n=26$) и при ее отсутствии ($n=75$) не выявлено. Во всех случаях при инвазии кости и ее флуоресценции ($n=11$) солидная часть опухоли также флуоресцировала

(Таблица 34).

Таблица 34 - Характеристика пациентов с гиперостозным поражением

Характеристика	Количество (n)
Флуоресценция кости	11 из 26 (42,3%)
Резекция или удаление измененной части кости	13 (50%)
Сточена высокоскоростным бором	13 (50%)
Реконструкция	
Титан	3 (13,6%)
Palacos	10 (36,4%)
Аутокость	13 (50%)
Всего:	26 (100%)

При гиперостозе флуоресценция отмечалась только в 42,3% случаев. Несмотря на это во всех случаях при наличии гиперостоза выполнено или удаление костного лоскута (50%) с последующей одномоментной пластикой аллоимплантатами (титаном или Palacos) или стачивание пораженных участков кости бором с последующей установкой собственного костного лоскута (50%). Удаление костного лоскута с одномоментной реконструкцией костного дефекта аллоимплантатами выполнено у 10/11 пациентов с флуоресценцией зоны гиперостоза (у 1 пациента свечение гиперостоза отмечалось на основании передней черепной ямки), при этом у 5 пациентов дополнительно сточены края трепанационного окна ввиду их свечения. У остальных больных с наличием гиперостоза и отсутствием свечения (15 человек) – удаление костного лоскута выполнено в 2 случаях (при обширном поражении), стачивание зоны гиперостоза бором – в 13 наблюдениях (при невыраженном поражении кости и при локализации процесса на основании черепа).

Таким образом, свечение пораженной кости в зоне гиперостоза может быть использовано для более радикального ее удаления, поскольку светящаяся кость всегда содержит опухолевые клетки. В тоже время, по данным литературы, зоны гиперостоза содержат опухолевые клетки только в 20-33% наблюдений [179].

8.4 Флуоресценция остаточных фрагментов опухоли после удаления основного узла

После удаления основного узла опухоли в 10 случаях выявлено свечение пораженной ТМО, не видимой в белом свете, в 5 случаях – пораженная арахноидальная оболочка прилежащих сосудов, в 4 случаях – свечение адвентиции подлежащих сосудов к опухоли, в 6 случаях – мелкие остаточные фрагменты опухоли, невидимые в белом свете, в 11 случаях выявлено поражение кости с флуоресценцией гиперостозов в 6 случаях и в 5 – флуоресценция кости без наличия гиперостозов (Приложение 3).

Таким образом, у 36 из 101 пациента (35,6%) в ходе удаления интракраниальных менингиом были выявлены (с помощью микроскопии и спектрометрии) дополнительные зоны поражения ТМО, арахноидальной оболочек, остаточные фрагменты опухоли, при этом в 27 наблюдениях (26,7%) хирургическая техника была скорректирована: выполнена дополнительная резекция пораженной ТМО, стачивание флуоресцирующих участков гиперостоза бором или удаление костного лоскута, доудавление остаточных фрагментов опухоли, коагуляция пораженной опухолью подлежащей арахноидальной оболочки. Ниже приводим некоторые клинические примеры пациентов с интракраниальными менингиомами, оперированными с метаболической навигацией.

Клиническое наблюдение 19

Пациентка С., 66 лет, с крупной менингиомой (Grade I) лобно-височной локализации с вовлечением наружных отделов крыла основной кости и небольшим узлом в заднелобной области слева (Рисунок 69). Во время операции визуализировалась яркая гомогенная флуоресценция опухоли и небольших фрагментов опухоли на ТМО. Обращал на себя внимание небольшой ярко флуоресцирующий второй узел, расположенный по заднему контуру трепанационного окна.

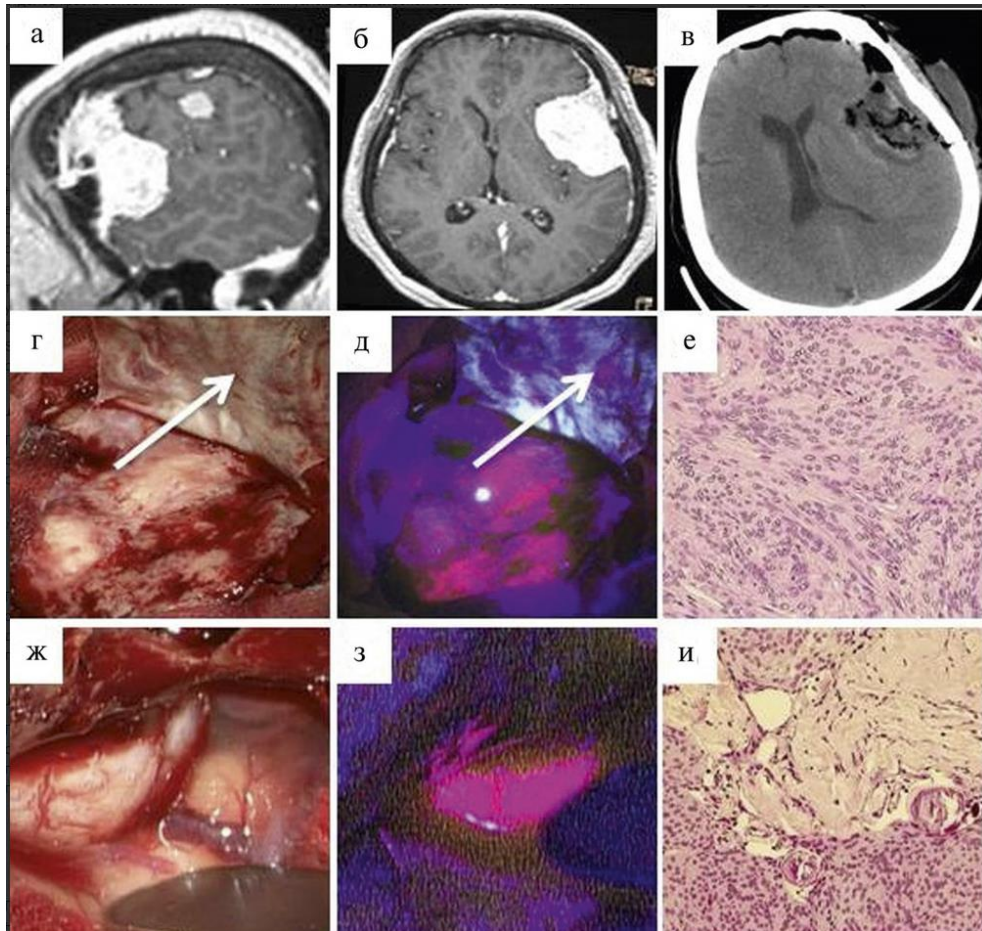


Рисунок 69 - клиническое наблюдение 19. Крупная менингиома лобно-височной локализации с вовлечением наружных отделов крыла основной кости и небольшим узлом в заднелобной области слева. а, б — предоперационная магнитно-резонансная томограмма в сагиттальной и аксиальной плоскостях с контрастированием, в Т1 режиме; в — послеоперационная компьютерная томограмма; аксиальный срез, г, ж — интраоперационная картина в белом свете; д, з — интраоперационная картина в режиме флуоресценции: определяется свечение крупного опухолевого узла и мелких фрагментов опухоли в ТМО над опухолью (указано белой стрелкой на рис. д) и яркая флуоресценция сателлитного опухолевого узла (з); е — вид патоморфологического препарата опухоли (большого узла менингиомы); и — вид патоморфологического препарата ТМО над опухолью, демонстрирующий инвазию клеток опухоли в ТМО.

Лазерная спектроскопия выявила высокие индексы накопления ПП IX в различных участках как основного, так и сателлитного опухолевого узла (Рисунок 70).

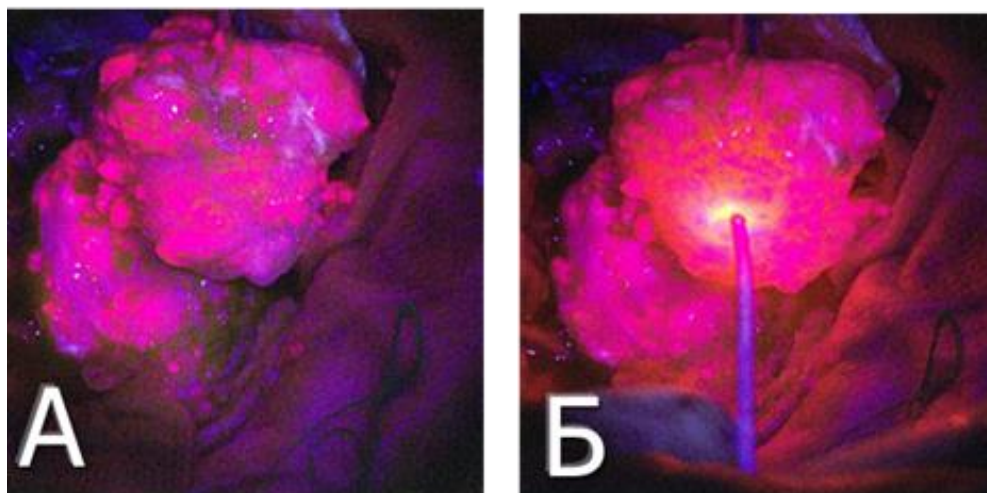


Рисунок 70 - Ярко флуоресцирующий основной узел менингиомы (А), спектроскопия узла (Б).

При этом в ложе удаленных опухолей не наблюдалось видимой флуоресценции, спектральные характеристики не превышали 2 у.е. Произведена костно-пластическая трепанация с резекцией наружных отделов крыла основной кости в области матрикса основного узла опухоли, удаление основного и сателлитного узлов опухоли, резекция измененной ТМО в области матрикса в проекции большого узла, а также коагуляция прилежащей ТМО в области сателлитного узла. Радикальность операции — Simpson II. Заживление раны — первичным натяжением. Течение послеоперационного периода — без особенностей.

Клиническое наблюдение 20

Пациент Б., 54 лет, с менингиомой средней трети верхнего сагиттального синуса слева (Grade I). В клинике отмечалась общемозговая симптоматика. Во время операции наблюдалась флуоресценция основного опухолевого узла, внутренней и наружной кортикальных пластинок в зоне гиперостоза (Рисунок 71).

Произведена резекция кости (включая ее гиперостотический участок), ТМО с матриксом и опухоли. Боковая стенка верхнего сагиттального синуса коагулирована. Выполнена пластика ТМО надкостничным лоскутом и дефекта кости — полиметилметакрилатом (Simpson II). Заживление раны — первичным

натяжением. Течение послеоперационного периода — без особенностей.

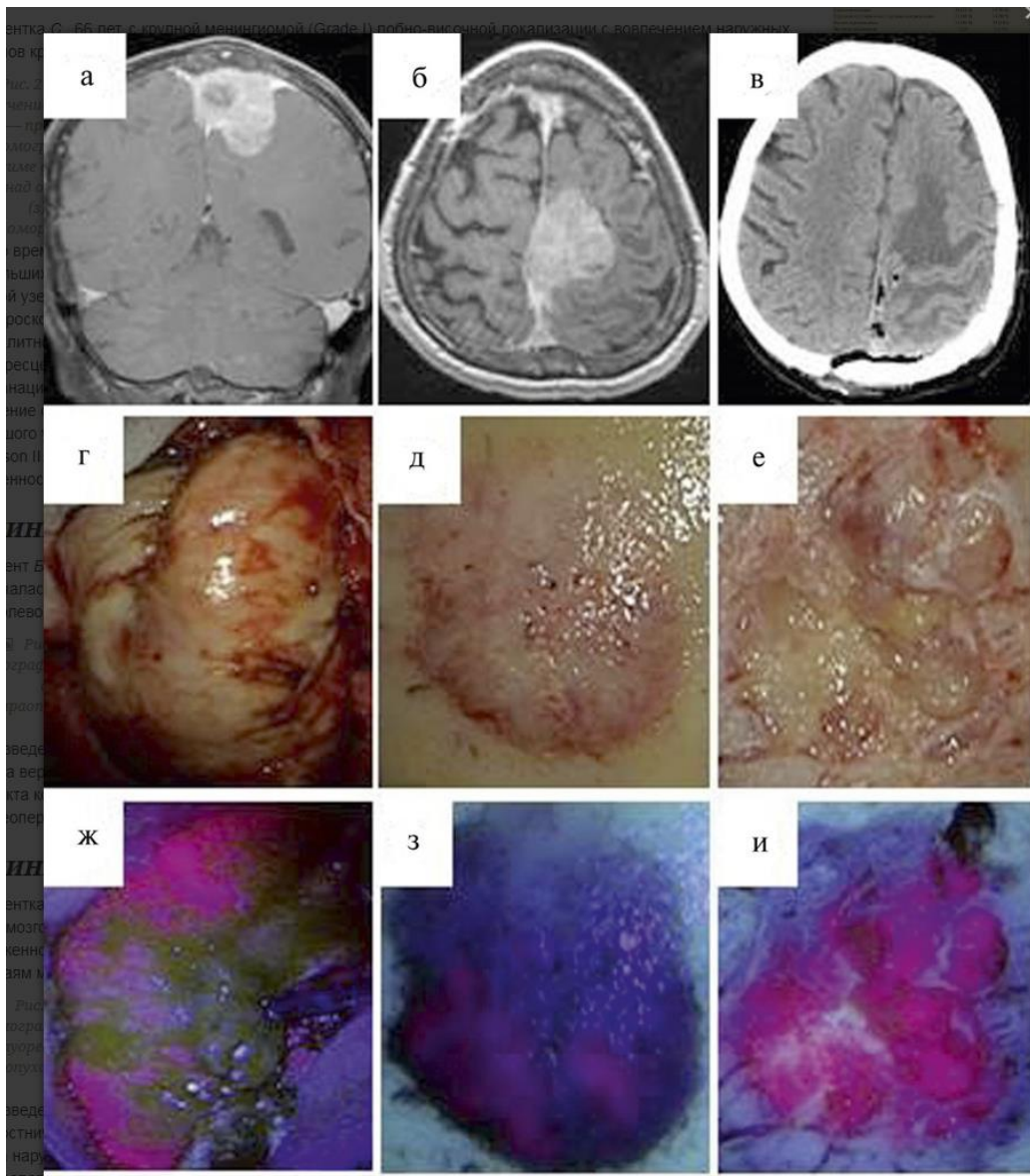


Рисунок 71 - Пациент Б., 54 лет, клиническое наблюдение № 20. А - предоперационная магнитно-резонансная томография б — предоперационная магнитно-резонансная томография в T1 режиме с контрастированием, коронарный, аксиальный срезы; в — послеоперационная компьютерная томография; аксиальный срез, г — интраоперационная картина в белом свете; д — интраоперационный вид пораженной наружной кортикальной пластинки; е — интраоперационный вид пораженной внутренней кортикальной пластинки; ж, з, и — интраоперационная картина во флуоресцентном режиме.

Клиническое наблюдение 21

Пациентка С., 37 лет, с конвекситальной менингиомой (Grade I) правой теменной области. В клинике отмечалась общемозговая симптоматика. Произведена костно-пластическая трепанация, удаление менингиомы и пораженной ТМО. При включении флуоресцентного режима отмечалась яркая флуоресценция участков ТМО по краям матрикса и участки флуоресценции на адвентиции сосудов в ложе удаленной менингиомы (Рисунок 72).

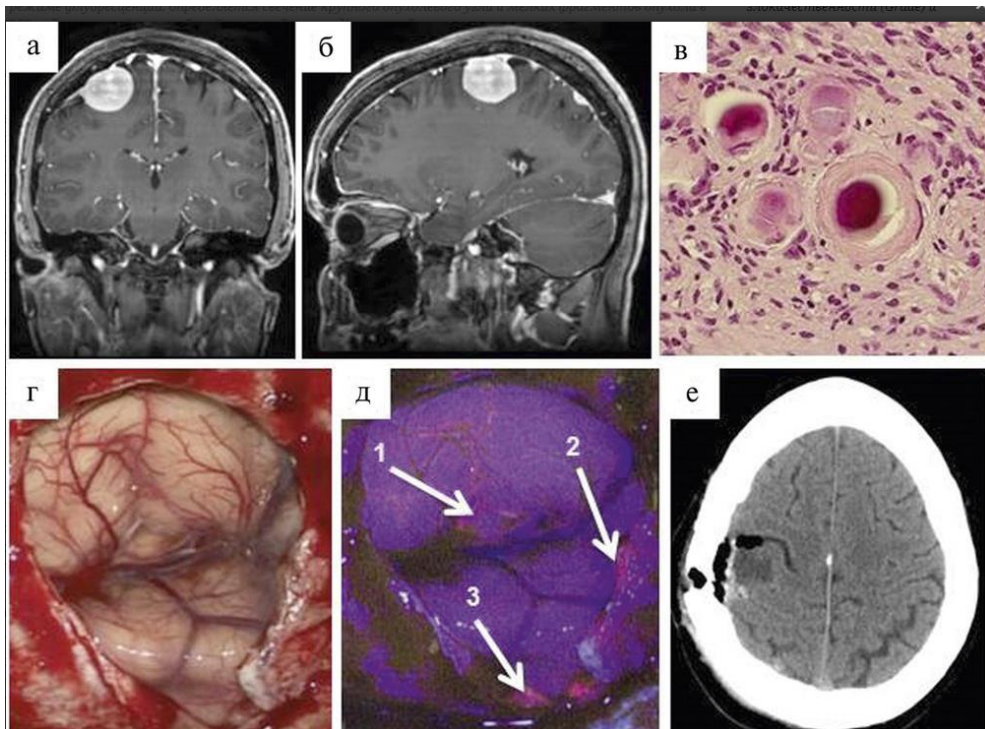


Рисунок 72 - Пациентка С., 37 лет, клиническое наблюдение № 21. а, б — предоперационная магнитно-резонансная томограмма в T1 режиме с контрастированием, коронарный и сагиттальный срезы; в — гистологический препарат опухоли; г, д — интраоперационная картина в белом свете и флуоресцентном режиме микроскопа BLUE 400 соответственно, стрелками указаны участки инвазии опухолевыми клетками интимы сосудов (стрелка 1) и ТМО (стрелки 2 и 3); е — послеоперационная компьютерная томограмма.

Выполнена лазерная спектроскопия в различных участках опухоли (солидная часть, пораженная ТМО, интактный мозг) – (Рисунок 73).

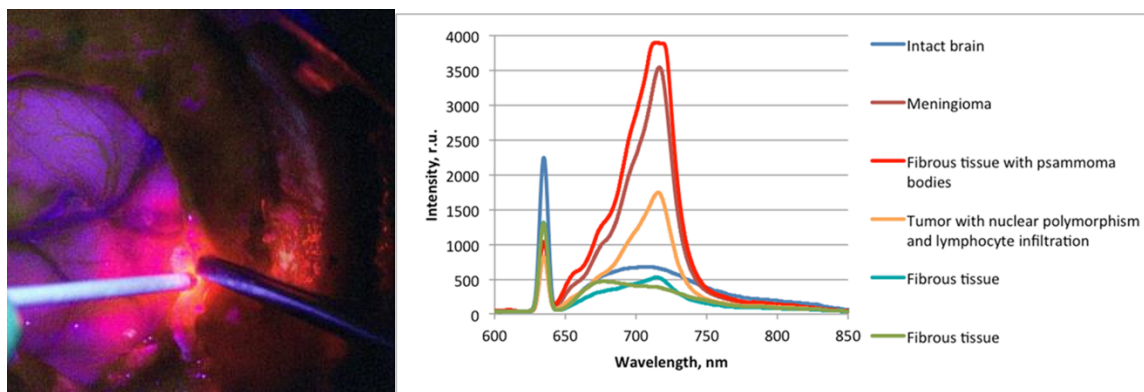


Рисунок 73 - Измерение показателей лазерной спектроскопии в зоне поражения ТМО: отмечается индекс накопления протопорфиринов 15 у.е.

Произведена дополнительная резекция ТМО с участками ее флуоресценции, пластика ТМО свободным надкостничным лоскутом. Биопсия флуоресцирующей адвентиции корковых сосудов не производилась из-за риска нарушения локального коркового кровотока. Заживление раны — первичным натяжением. Течение послеоперационного периода — без особенностей. Радикальность операции — Simpson II.

Клиническое наблюдение 22

Пациентка Б., 44 лет, с менинготелиоматозной менингиомой (Grade I) задней поверхности пирамиды височной кости слева (Рисунки 74-75).

В клинической картине отмечались легкие нарушения статики и координации. Выполнен ретросигмовидный доступ слева. Во время операции в режиме флуоресценции опухоль светилась ярко-розовым цветом. При стимуляции лицевого и тройничного нервов стимулятором NIM 3.0 они давали стойкий положительный ответ.

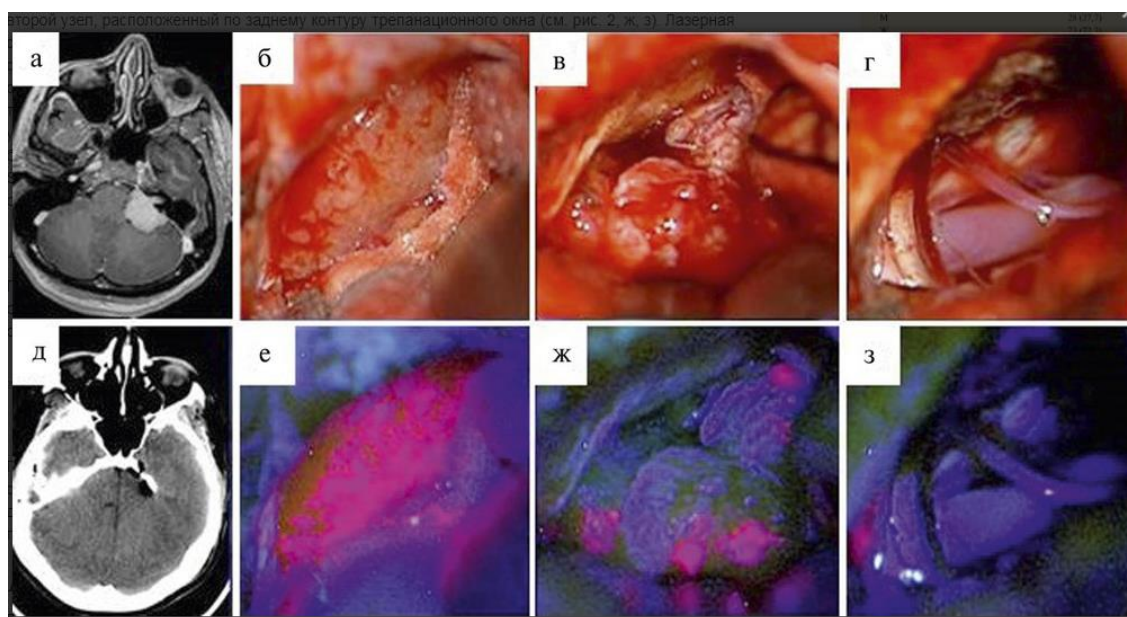


Рисунок 74 - Пациентка Б., 44 лет, клиническое наблюдение № 22. Менингиома задней поверхности пирамиды височной кости слева. а — предоперационная магнитно-резонансная томография, на которой определяется менингиома задней поверхности пирамиды височной кости слева; с контрастированием в Т1 режиме, аксиальный срез, б, в, г — интраоперационная картина в белом свете; е — гомогенное свечение крупного опухолевого узла; ж, з — яркая флуоресценция мелких остаточных фрагментов после удаления основного узла; д — послеоперационная компьютерная томография, аксиальный срез.

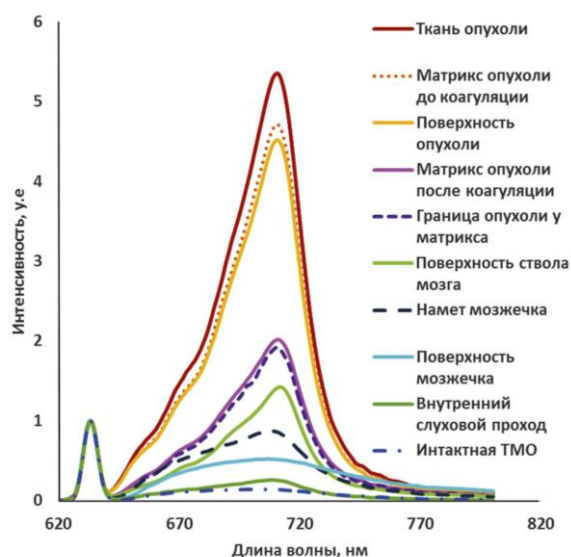


Рисунок 75 - Лазерная спектроскопия: выявляются показатели накопления ПП IX в различных участках измерений в операционной ране: максимальные уровни (красный пик) внутри опухоли; на ее матриксе (оранжевый пик), средние уровни накопления ПП IX на матриксе опухоли после его коагуляции (фиолетовый пик), в остаточных фрагментах опухоли в области ствола мозга (зеленый пик), фоновые значения на коре мозжечка (голубой пик).

Во время операции отмечалась яркая флуоресценция основного опухолевого узла. В конце операции в режиме флуоресценции идентифицированы несколько мелких фрагментов опухоли на стволе и в области пирамиды височной кости, которые были удалены и показали идентичную качественную и количественную флуоресценцию. Матрикс опухоли коагулирован (Simpson II).

В послеоперационном периоде отмечались нарушения статики и походки, которые частично регрессировали к моменту выписки. Заживление раны — первичным натяжением.

Клиническое наблюдение 23

Пациентка *М.*, 68 лет, со смешанной менингиомой (Grade I) основания передней черепной ямки. В клинической картине отмечались общемозговая симптоматика и anosmia с двух сторон. На МРТ выявлена менингиома передней черепной ямки (рис. 76, а). Выполнен правосторонний субфронтальный доступ, удаление основного узла опухоли, который ярко флуоресцировал (Рисунок 76, д). После удаления основного узла опухоли во флуоресцентном режиме обнаружены мелкие остаточные флуоресцирующие фрагменты опухоли (Рисунок 76, ж) в ложе удаленного узла и участки пораженной ТМО, которые были также удалены. Нефлуоресцирующий матрикс ТМО в области передней черепной ямки коагулирован. Радикальность операции — Simpson II. Течение послеоперационного периода — без особенностей. Неврологическая симптоматика — на дооперационном уровне.

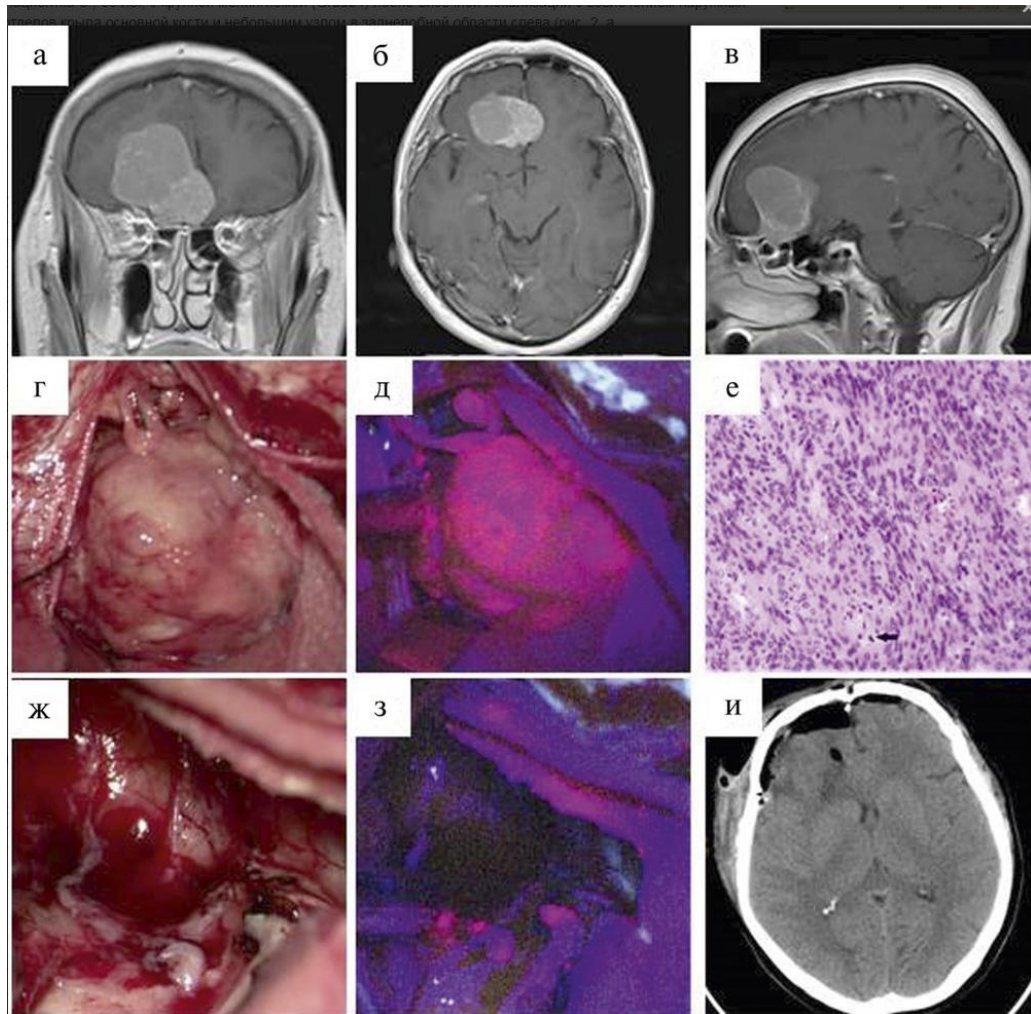


Рисунок 76 - Пациентка М., 68 лет, клиническое наблюдение № 23. Менингиома передней черепной ямки. а, б, в — предоперационная магнитно-резонансная томография в T1 режиме с контрастированием, коронарный, аксиальный и сагиттальный срезы, на которых определяется менингиома передней черепной ямки с латерализацией вправо; г, ж — интраоперационная картина в белом свете; д, з — интраоперационная картина в режиме флуоресценции отмечается яркое свечение основного опухолевого узла микроскопа BLUE 400; е — гистологический препарат опухоли; и — послеоперационная компьютерная томограмма).

Клиническое наблюдение 24

Ж., 60 лет, менингиома полюса лобной доли с гиперостозом (рис. 81). Обращает на себя внимание яркое свечение костного лоскута, пораженного опухолью с внутренней стороны. Гистологическое исследование подтвердило

инвазию опухолью гаверсовых каналов (Рисунки 77-78).

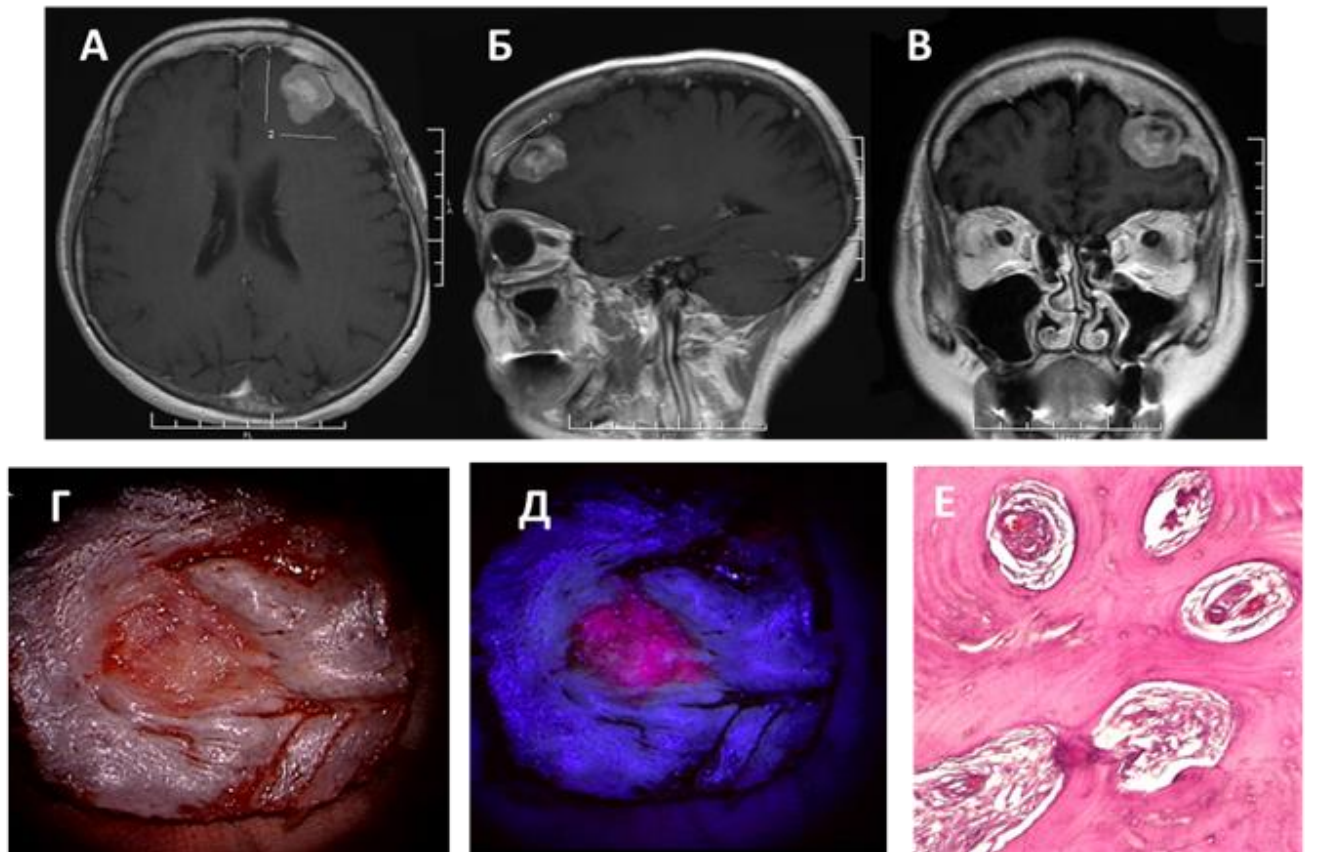


Рисунок 77 - Пациентка Ж., 60 лет, клиническое наблюдение № 24. Флуоресценция кости с гиперостозом у пациентки с конвексительной менингиомой в полюсе левой лобной доли. А: предоперационная МРТ в T1 режиме с контрастированием, аксиальный срез, Б - предоперационная МРТ в T1 режиме с контрастированием, сагиттальный срез, В - предоперационная МРТ в T1 режиме с контрастированием, коронарный срез, Г - эндостоз костного лоскута – осмотр в белом свете, Д – эндостоз костного лоскута – осмотр во флуоресцентном режиме (интраоперационные фотографии). Обращает внимание яркая флуоресценция пораженной кости. Е – гистологический препарат пораженной костной ткани: каналы остеонов заполнены опухолевыми клетками (окр. гематоксилин-эозин, х 200).

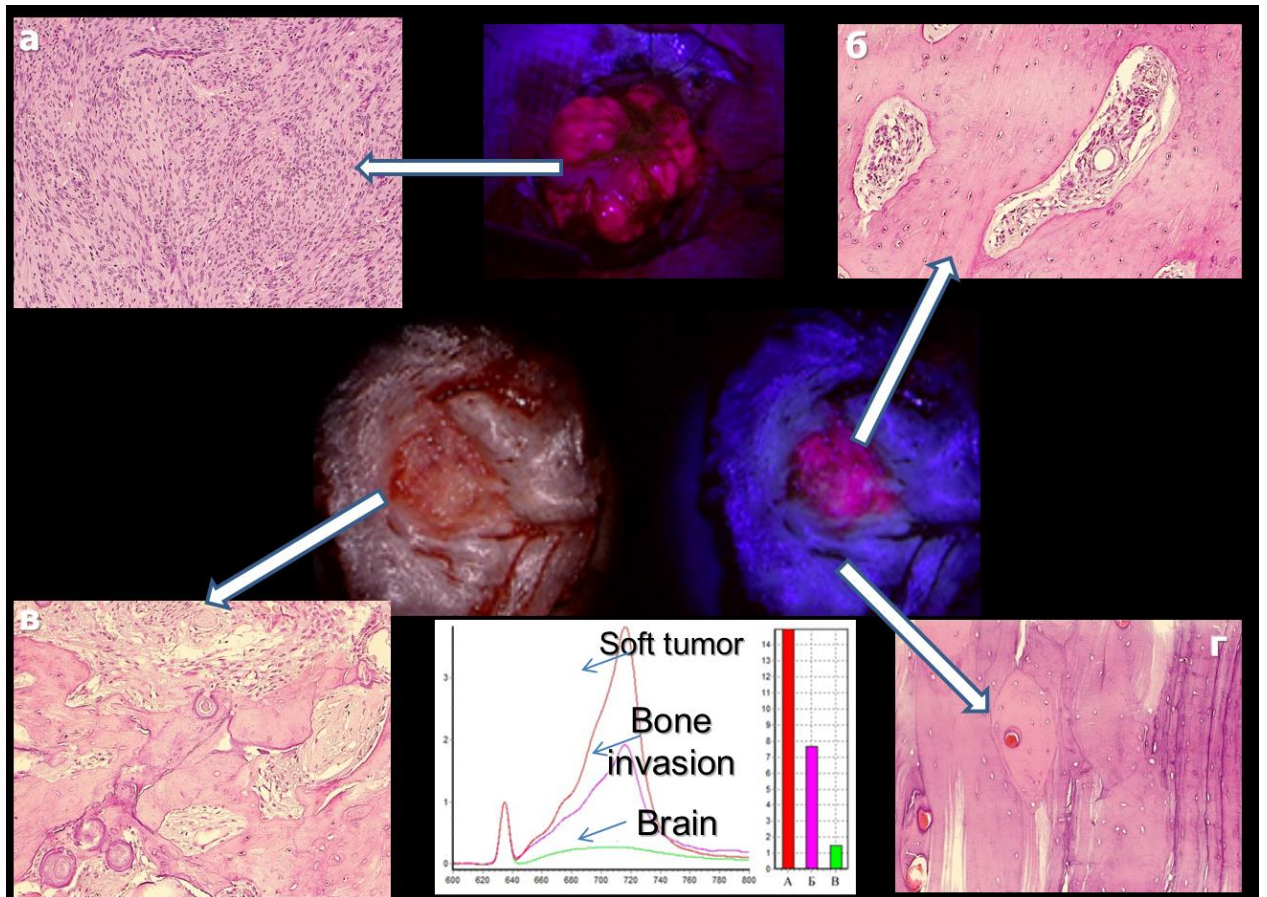


Рисунок 78 - Пациентка Ж., 60 лет, клиническое наблюдение 24. Гистологические препараты, выполненный из ярко светящейся солидной части опухоли (а), зоны флуоресцирующего гиперостоза (б), пограничной зоны кости (в) и интактной кости (г).

Клиническое наблюдение 25

М., 56 лет, фалькс-менингиома в передней – средней трети фалькса и верхнего сагиттального синуса. Яркая флуоресценция пораженной опухолью кости. Костный лоскут удален. Одномоментная реконструкция полиметилметакрилатом (Рисунок 79).

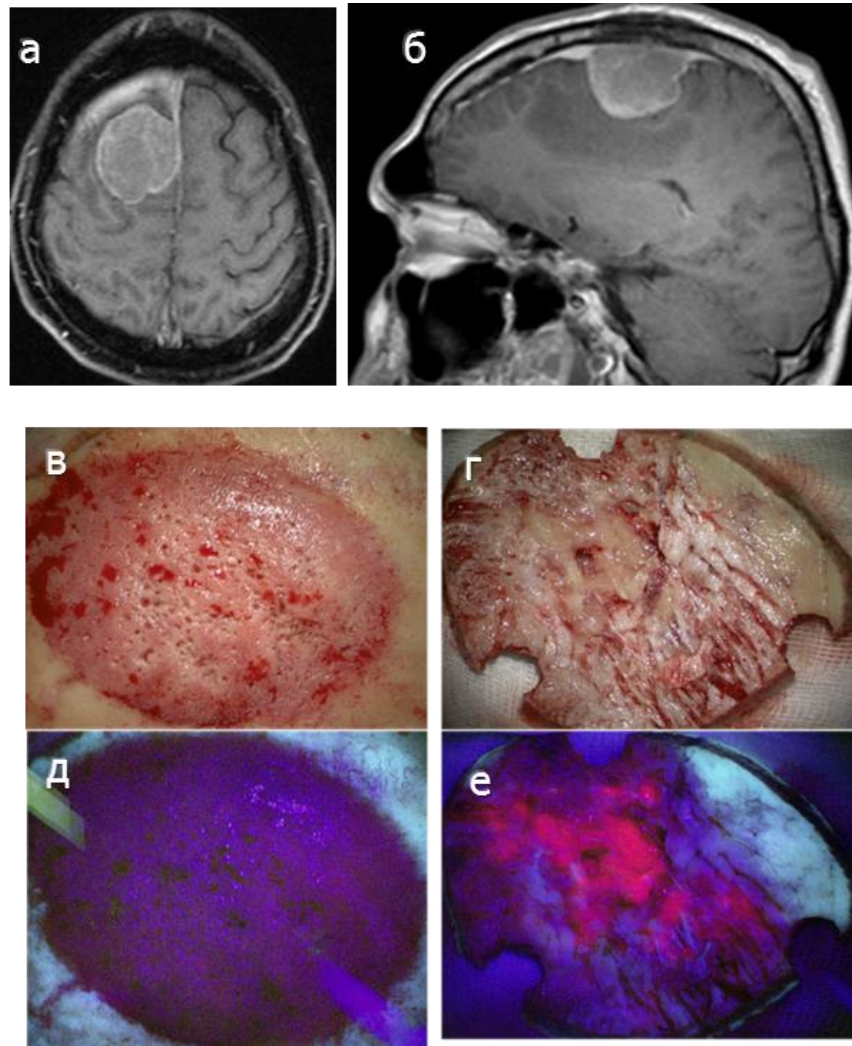


Рисунок 79 – Пациент М., 56 лет, клиническое наблюдение 25: а и б- МРТ до операции в Т1 режиме с контрастированием в сагиттальном и аксиальном срезах, в и г - исследование кости, пораженной гиперостозом в белом свете и д, е – в режиме флуоресценции: наружная кортикальная пластинка не светится, внутренняя – интенсивно флуоресцирует. Удаление костного лоскута с последующей пластикой материалом Palacos Versabond.

Клиническое наблюдение 26

М., 62 года. Флуоресценция адвентиции сосуда у пациента с менингиомой наружных отделов крыла основной кости слева (Рисунок 80).

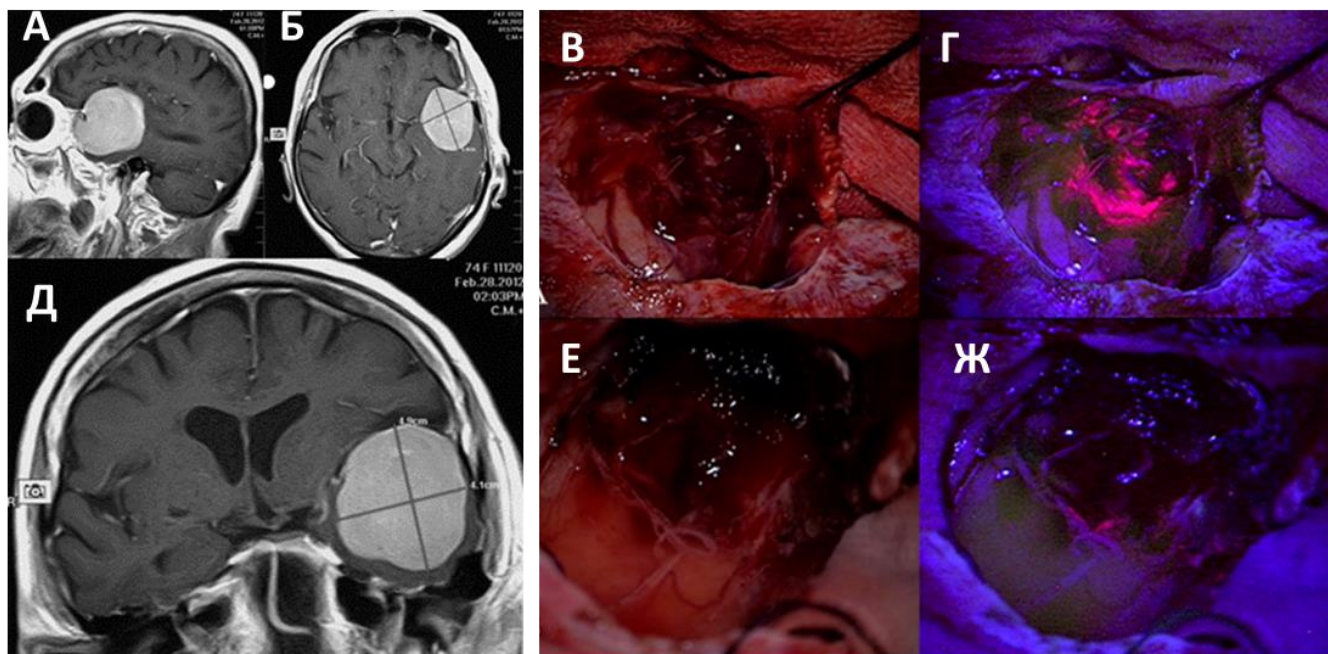


Рисунок 80 - Пациент М., 62 года, клиническое наблюдение 26. Интенсивная флуоресценция адвентиции сосудов после удаления основного узла опухоли. А: МРТ в Т1 режиме с контрастированием до операции, сагиттальный срез, Б - МРТ в Т1 режиме с контрастированием до операции, аксиальный срез, В - интраоперационная фотография в белом свете на этапе удаления основного узла опухоли, Г - интраоперационная фотография во флуоресцентном режиме на этапе удаления основного узла опухоли, видно яркое свечение основного узла опухоли, Д - МРТ в Т1 режиме с контрастированием до операции, коронарный срез, Е - интраоперационная фотография в белом свете в конце этапа удаления основного узла опухоли, Ж - интраоперационная фотография во флуоресцентном режиме в конце этапа удаления основного узла опухоли, визуализируется слабая флуоресценция остатков опухоли на адвентиции сосудов.

8.5 Радикальность оперативных вмешательств при интракраниальным менингиомах

По данным нашей серии, радикальность I типа по Simpson (Simpson I) достигнута у 26 (25,7%), II типа — у 67 (66,3%), III—IV типа — у 8 (7,9%) пациентов. Статистически значимой зависимости между фактом флуоресценции, степенью ее выраженности и радикальностью удаления по Simpson не выявлено

($p > 0,05$).

МРТ после операции выполнено только у 18 из 101 пациентов. Тотальное удаление опухоли выполнено у 12 человек, у 3 – субтотальное (2 наблюдения с менингиомами крыльев основной кости с близким расположением магистральных ветвей средней мозговой артерии и 2 наблюдения у пациентов с менингиомами средней и задней трети верхнего сагиттального синуса и фалькса). У 2 пациентов отмечалась парциальная резекция вследствие локализации больших менингиом в задне лобно-теменной области и инфильтративным характером их роста в зоне моторной коры.

8.6 Неврологический статус после операции

У 67 пациентов неврологический статус был без динамики, у 18 – отмечалось улучшение с регрессом симптоматики, у 16 – ухудшение в виде нарастания гемипареза у 10 больных, афазии – у 4 пациентов, гемианопсии у 2 пациентов, гемигипостезии у 4 пациентов. У 3 пациентов с ольфакторными менингиомами выросли явления гипо и anosмии. В данной группе было 2 летальных исхода - у женщины 66 лет с менингиомой фалькса и верхнего сагиттального синуса от полиорганной недостаточности и у мужчины 55 лет с менингиомой крыльев основной кости. В послеоперационном периоде выполнялась ревизия раны в связи с гематомой в ложе удаленной опухоли. В послеоперационном периоде отмечался летальный исход в связи с полиорганной недостаточностью. В сроки более 5 лет оперировано 56 пациентов, выполнен их опрос. Анкеты получены от 35 больных (62,5%). Из них у 31 больного рецидив заболевания отсутствовал, у 3 отмечался локальный рецидив, 1 пациент скончался от сопутствующего онкологического заболевания (рака легких) через 3 года после удаления менингиомы.

Резюме главы 8

На основании анализа данной серии наблюдений, исходя из высокой чувствительности метода ФД в хирургии интракраниальных менингиом, при использовании флуороскопии при удалении интракраниальных менингиом можно отметить следующие особенности. Менингиома является хорошо флуоресцирующей опухолью (чувствительность составила до 94,05%, что является

максимальным показателем среди опухолей головного мозга). Яркая флуоресценция отмечается у 63,2% пациентов, умеренная в 24,2% и слабая в 12,6%, при этом гистология менингиомы (Grade) достоверно не влияет на ее флуоресценцию.

Grade менингиомы, ее локализация, пол, возраст пациента, прием противоотечных и противосудорожных препаратов, гистологический подтип менингиомы, наличие сопутствующих заболеваний, факт повторной операции значимо не влияли на флуоресцентный эффект во время оперативного вмешательства. Кровотечение во время оперативного вмешательства блокирует флуоресцентный эффект, при этом в отдельных наблюдениях применение спектроскопии позволяет выявить накопление протопорфирина.

Флуоресценция позволила у 21% пациентов выявить поражения твердой мозговой и арахноидальной оболочек, адвентиции сосудов при отсутствии изменений в белом свете, дополнительные узлы опухоли и ее мелких фрагментов после удаления основного узла и при многоочаговом поражении (менингеозе), а также матрикс (зону роста) менингиомы. Флуоресценция позволяет визуализировать поражение костных структур как в зоне гиперостоза (гиперостоз отмечался у 25,7% пациентов, из них флуоресценция кости наблюдалась 42,3% случаях), так и в зоне визуально неизменной кости (при этом следует учитывать различные варианты несовпадений между наличием или отсутствием гиперостоза, наличием или отсутствием опухолевых клеток в кости по данным патоморфологического исследования и наличием или отсутствием свечения).

Глава 9 Результаты применения метаболической навигации в хирургии метастазов различных раков в головной мозг

9.1 Общая чувствительность метода ФД с 5-АЛК в хирургии метастатических опухолей

Видимая флуоресценция регистрировалась в 61 (84,7%) из 72 опухолевых очагов, из них слабая – в 14 (22,9%), умеренная – в 16 (26,3%), выраженная – в 31 (50,8%). Отсутствие флуоресценции наблюдалось в 11 (15,3%) очагах (Таблица 35).

Таблица 35 - Распределение интенсивности флуоресценции интракраниальных метастазов.

Группа	Наличие флуоресценции		Интенсивность флуоресценции		
	Да	Нет	Слабая	Умеренная	Выраженная
Первичный очаг					
Рак легкого	21 (30%)	5 (7,1%)	0 (0%)	4 (19%)	17 (81%)
Рак молочной железы	18 (25,7%)	2 (2,9%)	9 (50%)	5 (27,8%)	4 (22,2%)
Другое	21 (30%)	3 (4,3%)	5 (23,8%)	7 (33,3%)	9 (42,9%)
Гистология					
Аденокарцинома	23 (57,5%)	2 (5%)	4 (17,4%)	8 (34,8%)	11(47,8%)
Другое	12 (30%)	3 (7,5%)	1 (8,3%)	2 (16,7%)	9 (75%)
Кровотечение					
Есть кровотечение	20 (27,8%)	4 (5,6%)	9 (45%)	5 (25%)	6 (30%)
Нет кровотечения	41 (56,9%)	7 (9,7%)	5 (12,2%)	11 (26,8%)	25 (61%)
Радиохирургия до операции					
	3 (15,6%)	14 (82,4%)	4 (28,6%)	3 (21,4%)	7 (50%)
Всего очагов:					
72 (100%)	61 (84,7%)	11 (15,3%)	14 (22,9%)	16 (26,3%)	31 (50,8%)

Яркая флуоресценция значительно чаще встречалась при метастазах рака легкого (81%) по сравнению с раком молочной железы (22,2%). Видимая

флуоресценция отсутствовала в 4 очагах метастазов меланомы, в 3 – с метастазами рака почки, у 4 с метастазами рака молочной железы.

9.2 Анализ факторов, влияющих на наличие и интенсивность видимой флуоресценции

Возраст. Медиана возраста в группе с видимой флуоресценцией составила 58 лет (37-78 лет), в группе с отсутствием флуоресценции – 57 лет (40-79 лет). Значения в обеих группах были нормально распределены. Проверка на нормальность была проведена с помощью графического метода и оценки эксцесса и асимметрии. Сравнение двух групп было проведено с помощью критерия Стьюдента. Статистически значимых различий между группами не обнаружено ($p=0,84$).

Пол. Статистический анализ с использованием двустороннего точного критерия Фишера не выявил различий по полу между группами с наличием и отсутствием флуоресценции ($p=0,3$). С помощью этого же критерия не удалось обнаружить различий между группами с разной интенсивностью свечения ($p=0,28$).

Локализация. Метастатические очаги были разделены в зависимости от локализации (лобная доля, теменная доля, затылочная доля, височная доля, гемисфера мозжечка). Статистический анализ с использованием одностороннего точного критерия Фишера не показал различий в характере флуоресценции между группами ($p=0,43$). Отдельно было проведено сравнение между супратенториально (лобная, теменная, затылочная, височная доля) и субтенториально (гемисфера мозжечка) расположенными опухолями с помощью двустороннего варианта точного критерия Фишера: статистически значимых различий между двумя группами не обнаружено ($p=0,76$).

В зависимости от глубины расположения метастазов в ткани мозга, которая оценивалась интраоперационно и с помощью предоперационной МРТ, было произведено разделение очагов на 2 группы. В первой группе (21 наблюдение) глубина расположения составляла менее 15 мм, во второй (18 наблюдений) – составляла 15 мм и более. В остальных случаях оценить глубину расположения

очага не удалось. Различий по характеру флуоресценции (есть/нет) и (слабая/умеренная/выраженная) с помощью точного критерия Фишера не обнаружено ($p=0,14$ и $p=0,16$ соответственно). Корреляции между глубиной расположения и интенсивностью флуоресценции не найдено ($r=-0,29$; $p=0,86$).

Первичный очаг. Большинство пациентов в нашем исследовании были с метастазами рака легкого и молочной железы (Табл.). Было проведено сравнение метастазов рака легкого и молочной железы по характеру флуоресценции. Статистически значимых различий с помощью двустороннего точного критерия Фишера по наличию флуоресценции (есть/нет) выявить не удалось ($p=0,9$), однако интенсивность флуоресценции в группе рака легких оказалась выше ($p=0,03$). При сравнении группы рака легкого с группой, которая объединяла меланому, колоректальный рак, рак пищевода, губы, шейки матки, яичников, мочевого пузыря и почечноклеточный рак, статистически значимых различий по факту флуоресценции с помощью двустороннего критерия Фишера выявлено не было ($p=0,98$), однако интенсивность флуоресценции опухолей из группы рака легкого была достоверно выше ($p=0,01$). При сравнении группы рака молочной железы с группой, включающей в себя все остальные наблюдения (за исключением рака легкого) не было обнаружено различий по факту свечения ($p=0,98$), однако интенсивность флуоресценции в группе рака молочной железы была достоверно ниже ($p=0,03$). Таким образом, интенсивность флуоресценции выше в группе рака легкого, в то время как наименьшая по выраженности флуоресценция наблюдалась в группе рака молочной железы.

Гистология. Статистическому сравнению подверглись группа аденокарциномы и группа, в которую входили опухоли всех остальных гистологических структур – меланома, крупноклеточный, мелкоклеточный, плоскоклеточный и низкодифференцированный раки. Анализ с применением двустороннего варианта точного критерия Фишера не продемонстрировал различий между группами по факту ($p=0,34$) и интенсивности флуоресценции ($p=0,37$). Корреляционный анализ также не показал статистически значимой связи между интенсивностью флуоресценции и частотой встречаемости

аденокарциномы в нашей выборке ($r=0,069$; $p=0,632$).

Ki-67. Индекс Ki-67 был известен в 10 случаях из 72 (13,9%) и составил от 15% до 80%. В 9 из 10 случаев индекс Ki-67 был известен для опухолей из группы рака молочной железы. Анализ с помощью метода Спирмена не выявил статистически значимой корреляции между интенсивностью флуоресценции и величиной значения индекса Ki-67 ($r=-0,33$; $p=0,35$).

Структура опухоли. В зависимости от макроструктуры все опухоли были разделены на солидные и кистозно-солидные. Макроструктура опухоли оценивалась интраоперационно. Группа кистозно-солидных опухолей составила 24 наблюдения. Группа опухолей солидной структуры насчитывала 45 наблюдений. В 3 случаях макроструктура не оценивалась. Статистически значимых различий между группами по наличию ($p=0,71$) и интенсивности ($p=0,41$) с помощью точного критерия Фишера обнаружено не было.

Размер опухоли. Размер опухоли оценивался по данным предоперационной МРТ и интраоперационно. В зависимости от размера было произведено разделение метастазов на 2 группы. В первую группу вошли метастазы более 40 мм в максимальном линейном размере в одной из плоскостей (18 наблюдений), во вторую – 40 мм и менее (33 наблюдения). В остальных случаях размер очага оценить не удалось. С помощью двустороннего точного критерия Фишера различий по наличию ($p=1$) и яркости ($p=0,069$) флуоресценции обнаружено не было. Корреляционный анализ не показал статистически значимой линейной связи между размером опухоли и интенсивностью флуоресценции ($r=0,11$; $p=0,42$).

Кровотечение. Во время удаления опухоли сильное кровотечение было зарегистрировано в 24 случаях из 72 (33,3%). В зависимости от его наличия были сформированы две группы (Табл.). С помощью двустороннего точного теста Фишера различий между группами по факту флуоресценции обнаружено не было ($p=0,98$). Тот же статистический метод позволил выявить различия между группами по интенсивности флуоресценции ($p=0,013$). Корреляционный анализ по методу Спирмена продемонстрировал статистически значимую обратную связь между наличием кровотечения и интенсивностью флуоресценции ($r=-0,26$;

$p=0,025$), иными словами, при наличии кровотечения опухоль светится слабее.

Радиохирургия до операции. В зависимости от факта проведения радиохирургического лечения пациенты были разделены на две группы: в первую группу входили пациенты, которым проводилось радиохирургическое лечение до операции, во вторую группу – пациенты без такового. Радиохирургическое лечение до операции проводилось в 17 случаях. В 46 случаях радиохирургическое лечение не проводилось. Сроки проведения радиохирургии в первой группе составили от 1 суток до 35 месяцев. Неoadьювантное стереотаксическое облучение метастатического очага за сутки до операции проводилось в 6 случаях. Для статистического анализа был использован точный критерий Фишера, который не показал различий между группами по наличию ($p=1$) и интенсивности флуоресценции ($p=0,46$). Далее был проведен корреляционный анализ по методу Спирмена, который продемонстрировал положительную связь между сроками проведения облучения метастатического очага и интенсивностью флуоресценции ($r=0,61$; $p=0,034$), т. е. с увеличением сроков давности радиохирургического лечения увеличивалась интенсивность флуоресценции удаляемого метастатического очага.

Неoadьювантное стереотаксическое лечение за 1 сутки до операции в 5 случаях из 6 проводилось у пациентов с диагностированными метастатическими очагами рака молочной железы. Отбор пациентов для лечения по данной схеме целенаправленно не производился, поэтому преобладание пациентов с метастазами рака молочной железы оказалось случайным. После исключения всех случаев радиохирургического вмешательства за сутки до операции корреляционный анализ был проведен повторно. Статистически значимой зависимости между сроками облучения опухоли и интенсивностью флуоресценции обнаружено не было ($r=0,37$; $p=0,33$). Более детальный анализ также продемонстрировал, что размер опухолевого очага имел обратную корреляцию с индексом пролиферативной активности Ki-67 ($r=-0,87$; $p=0,058$), однако статистическая значимость не была достигнута.

Химиотерапия до операции. Все пациенты были разделены на две группы

в зависимости от факта проведения химиотерапевтического лечения до операции: первая группа – пациенты, которые прошли курс химиотерапии (23 наблюдения); вторая группа – пациенты, без адъювантного химиотерапевтического лечения (19 наблюдений). В 21 случае о проведении химиотерапевтического лечения неизвестно. Сроки проведения химиотерапии у пациентов первой группы составили от 7 до 24 месяцев до операции по удалению метастазов. Используемые препараты или комбинации, а также полученные дозы в исследовании не учитывались. Статистически различий между группами по наличию ($p=0,72$) и интенсивности ($p=0,088$) флуоресценции с помощью точного теста Фишера не обнаружено. Корреляции между сроками проведения химиотерапии и интенсивностью свечения также обнаружено не было ($r=0,28$; $p=0,27$).

Прием дексаметазона до операции. Дексаметазон в различных дозировках до операции применяли 43 пациента из 63 (68,3%). Пациенты были разделены на две группы в зависимости от факта приема независимо от дозировки. Различий между группами по факту флуоресценции ($p=0,71$) и степени флуоресценции ($p=0,42$) с помощью точного критерия Фишера статистически не обнаружено. Статистически достоверной связи между дозой дексаметазона и интенсивностью флуоресценции с помощью метода Спирмена также не обнаружено ($r=-0,18$; $p=0,3$).

Применение маннитола и гипертонического раствора гидроксиэтилкрахмала (ГиперХАЕС) на этапе хирургического доступа.

На этапе хирургического доступа с целью релаксации головного мозга в 22 случаях (35%) применялась инфузия 200 мл 15% раствора маннитола (в 16 случаях) или 250 мл гипертонического раствора гидроксиэтилкрахмала - ГиперХАЕС (в 6 случаях). Произведено разделение на 2 группы: первая группа – все случаи применения данных гипертонических растворов; вторая группа – отсутствие применения таковых. Статистический анализ с помощью точного критерия Фишера не продемонстрировал различий между группами по наличию ($p=0,48$) и интенсивности флуоресценции ($p=0,26$).

Прием противосудорожных препаратов до операции. Противосудорожные препараты применялись в 15 случаях из 63 (23,8%). Все

пациенты использовали по 1 препарату: карбамазепин – 12 пациентов (80,0%), вальпроевую кислоту – 2 пациента (13,3%), клоназепам – 1 пациент (6,7%). Было произведено разделение на две группы по факту приема противосудорожных препаратов вне зависимости от названия: первая группа – пациенты, принимающие противосудорожные препараты; вторая группа – пациенты не принимающие таковые. Анализ с помощью точного критерия Фишера не продемонстрировал различий по наличию ($p=0,67$) и интенсивности ($p=0,61$) флуоресценции. Достоверной связи между принимаемой дозой карбамазепина и интенсивностью флуоресценции также не найдено ($r=-0,29$; $p=0,3$). Результаты статистического анализа влияния всех изученных факторов продемонстрированы в Таблице 44.

По результатам анализа данных из нашей серии, основными факторами, статистически влияющими на интенсивность видимой флуоресценции, являлись источник первичного очага (рак легкого) и наличие кровотечения во время операции.

Опухоли легкого флуоресцировали ярче остальных, а опухоли молочной железы имели самую низкую интенсивность флуоресценции по сравнению со всеми другими.

Кровотечение на этапах доступа и удаления опухоли достоверно снижало яркость флуоресценции.

Уменьшение сроков между проводимым радиохирургическим вмешательством и микрохирургической резекцией опухоли достоверно ухудшало интенсивность видимой флуоресценции (Таблица 36).

Таблица 36 - Анализ факторов, которые могут влиять на флуоресцентный эффект в хирургии интракраниальных метастазов.

Факторы	Флуоресценция (да/нет)	Интенсивность флуоресценции	Примечание
Возраст	p=0,84		Нет связи
Пол	p=0,3	p=0,28	Нет связи
Локализация			
Все между собой	p=0,43		Нет связи
Супра/субтенториально	p=0,76		Нет связи
На глубине не более 15 мм/более 15 мм	p=0,14	p=0,16	Нет связи
Первичный очаг			
Рак легкого/рак молочной железы	p=0,9	p=0,03 r=0,283; p=0,017	Рак легких ярче рака молочной железы
Рак легкого/остальные	p=0,98	p=0,01	Рак легких ярче остальных
Рак молочной железы/остальные	p=0,98	p=0,03	Рак молочной железы наименее яркий
Гистология			
Аденокарцинома/все остальные	p=0,57	p=0,36	Нет связи
Ki-67		r=-0,33; p=0,35	Нет связи
Структура опухоли			
Солидные/кистозно-солидные	p=0,71	p=0,41	Нет связи
Размер опухоли			
Не более 40 мм/более 40 мм	p=1	p=0,069 r=0,11; p=0,42	Нет связи
Радиохирургия (РХ) - корреляция сроки выполнения - интенсивность		r=0,61; p=0,034	Чем раньше до операции выполняется РХ, тем выше интенсивность
Химиотерапия	p=0,72	p=0,088	Нет связи
Корреляция сроки выполнения - интенсивность		r=0,28; p=0,27	Нет корреляции
Дексаметазон	p=0,71	p=0,42	Нет связи
Доза дексаметазона		r=-0,18; p=0,3	Нет связи
Противосудорожные	p=0,67	p=0,61	Нет связи
Доза карбамазепина		r=-0,29; p=0,3	Нет связи
Кровотечение	p=0,98	p=0,013 r=-0,26; p=0,025	При отсутствии свечения ярче

С целью интерпретации полученных результатов был проведен анализ

парных корреляций между всеми исследуемыми факторами.

Анализ показал, что в группе рака молочной железы, достоверно чаще встречалось наличие кровотечения на этапе доступа и удаления опухоли, что ухудшает видимую флуоресценцию, в то время как в группе рака легкого, наоборот, количество кровотечений было наименьшим.

После исключения случаев с выраженным кровотечением во время операции было проведено повторное сравнение между группами с различной локализацией первичного очага.

Статистический анализ с применением двустороннего варианта точного критерия Фишера и корреляционного анализа продемонстрировал схожие результаты: наиболее яркая флуоресценция метастазов наблюдалась в группе пациентов с раком легкого ($p=0,037$), флуоресценция метастазов рака молочной железы оказалась наименьшей по интенсивности по сравнению со всеми остальными ($p=0,008$).

Следует отметить, что исключение всех случаев с выраженным интраоперационным кровотечением привело к исключению наиболее крупных метастатических очагов, группы сравнивались с помощью критерия Манна-Уитни. Размеры очагов в группе с наличием кровотечения были достоверно больше ($p=0,046$).

Клиническое наблюдение 27

Пациент М, 58 лет. Обратился с жалобами на сильную головную боль. При неврологическом осмотре обнаружено снижение мышечной силы в левых конечностях. При осмотре офтальмолога обнаружен начальный застойный диск зрительного нерва справа. При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости и забрюшинного пространства обнаружено объемное образование левой почки. По данным МРТ: очаговое поражение правой лобной и височной долей (рис. 85). Было принято решение о проведении операции – удаления опухолей правой лобной и височной долей с использованием флуоресцентной навигации. Была выполнена костно-пластическая трепанация черепа, выпилен костный лоскут

размерами 8x10 см. Опухоли обеих долей были кистозно-солидной структуры. В режиме флуоресценции образования обеих долей светились равномерным розовым цветом, что улучшило визуализацию очагов. После интраоперационной УЗИ-диагностики последовательно в правой лобной и височной долях выполнены 2 кортикотомии с последующим удалением обеих опухолевых узлов единым блоком. Гистологический диагноз: метастаз светлоклеточной аденокарциномы. В послеоперационном периоде наблюдался регресс цефалгической симптоматики и увеличение силы в левых конечностях. На следующем этапе было проведено стереотаксическое облучение ложа удаленных опухолей с помощью линейного ускорителя CyberKnife. В дальнейшем пациент был прооперирован по поводу опухоли левой почки – проведена левосторонняя нефрэктомия с адреналэктомией. Через 4 месяца после первой операции в связи с возникновением 2 новых очагов в правой лобной и 1 очага в правой височной доле пациенту было проведено комбинированное лечение – стереотаксическое облучение очагов обеих долей с последующим хирургическим удалением наиболее крупного из них в правой лобной доле. Повторная операция проводилась с использованием 5-АЛК флуоресцентной навигации, опухоль светилась равномерным розовым цветом и была удалена полностью. Через 2 месяца пациенту была проведена контрольная МРТ, которая показала наличие более 12 новых супра- и субтенториально расположенных очагов. Было рекомендовано паллиативное лечение – облучение всего мозга, от которого пациент отказался (Рисунок 81).

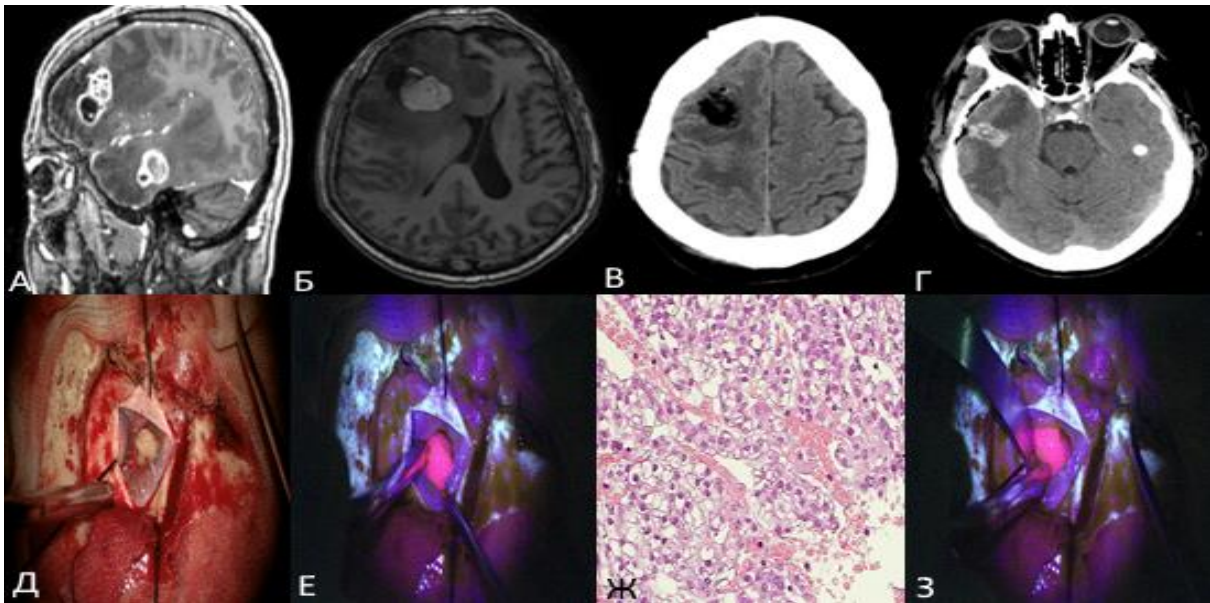


Рисунок 81 - Пациент М., 58 лет, клиническое наблюдение 27. Удаление множественных метастатических узлов у пациента с раком почки. А, Б – предоперационная МРТ в режиме T1 с контрастированием, сагиттальный срез (А); предоперационная МРТ в режиме T1 с контрастированием, аксиальный срез (Б); В, Г – послеоперационная КТ, аксиальные срезы, выполненные на разных уровнях; Д – вид операционной раны в белом свете. Е, З – свечение опухоли в режиме VL-400, Ж – гистологический препарат: метастаз светлоклеточной аденокарциномы.

Клиническое наблюдение 28

Флуоресценция ложа удаленной опухоли (метастаз меланомы с кровоизлиянием). Ж., 62 года, многоочаговое поражение мозга. В процессе удаления опухоли отмечалась слабая флуоресценция узла меланомы в правой лобной доле, а также яркая флуоресценция ложа удаленного узла с кровоизлиянием. В анамнезе – у пациентки 10 лет назад удалена меланома на правой ступне. За месяц до госпитализации в связи с общемозговой симптоматикой выполнено МРТ головного мозга, на котором выявлено многоочаговое поражение мозга (вероятно вторичной природы, наиболее крупный узел в правой лобной доле с кровоизлиянием). Проведен консилиум с участием радиологов: принято решение о проведении первым этапом удаления наиболее крупного узла в правой лобной

доле с кровоизлиянием с целью верификации диагноза. В последующем – проведение лучевой терапии (облучение всего головного мозга), химиотерапии по результатам биопсии (Рисунок 82).

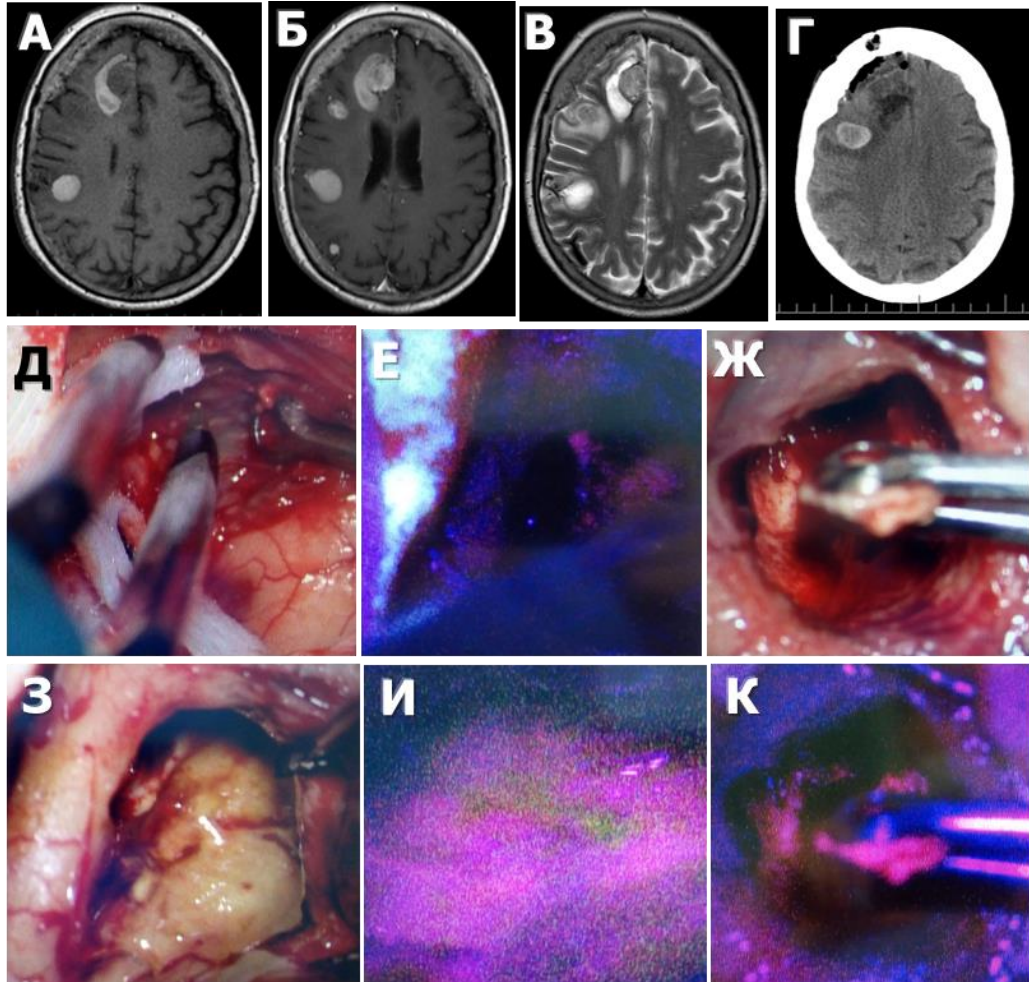


Рисунок 82 –клиническое наблюдение 28. Флуоресценция метастаза меланомы с кровоизлиянием, так и его ложа. А – МРТ головного мозга, T1 режим, аксиальный срез, визуализируются множественные кровоизлияния преимущественно в правом полушарии мозга, Б – МРТ T1 режим с контрастом, аксиальный срез, отмечается накопление контрастного препарата в узлах, В – МРТ, аксиальный срез в T2 режиме, Г – послеоперационная СКТ, аксиальный срез, Д – интраоперационная фотография, вид в белом свете, Е - интраоперационная фотография, вид во флуоресцентном режиме, отмечается слабое свечение опухоли, Ж – взятие биопсии из светящегося ложа опухоли (К), З – вид послеоперационной полости после удаления опухоли вместе с кровоизлиянием, И – стенки послеоперационной полости ярко флуоресцируют.

При гистологическом исследовании биопсии из светящегося ложа

удаленного метастаза с кровоизлиянием опухолевых клеток не выявлено.

Исследуемые порции биоптата представлены крошечными фрагментами мозговой ткани с сосудами и следами старых и свежих кровоизлияний с лимфоидной инфильтрацией. В третьей (окончательной порции из опухолевого узла) порции полученного материала выявляется опухолевая ткань преимущественно солидного строения, с дольчатостью за счет тонких фиброваскулярных перегородок. Опухоль представлена эпителиодными клетками с клеточным и ядерным полиморфизмом и четкими границами. Ядра клеток светлые с четкими ядрышками. Ядерно-цитоплазматический индекс повышен. Отмечаются многочисленные фигуры митозов, включая патологические формы. Наблюдаются массивные следы кровоизлияний различной давности с лимфоидной инфильтрацией и нагруженными гемосидерином пенистыми клетками.

Иммуногистохимическое исследование: определяется положительная экспрессия HMB45, в инфильтратах и очагах кровоизлияний экспрессируется CD-45, CD-68, отмечается резидуальная экспрессия GFAP и отрицательная экспрессия CK AE1/AE3.

Молекулярно-генетическое исследование: выявлена мутация V600E гена BRAF методом ПЦР в реальном времени. Морфологическая картина и иммунофенотип соответствуют метастазу меланомы с мутацией BRAF V600E. Таким образом, данный пример демонстрирует редкое наблюдение флуоресценции метастаза меланомы с кровоизлиянием, а также неспецифическое свечение ложа удаленного узла без наличия в нем опухолевых клеток.

9.3 Анализ общей и безрецидивной выживаемости пациентов с метастатическим поражением головного мозга

Общая выживаемость. Данные катамнеза были известны в 41 из 63 случаев. Летальный исход был зарегистрирован в 23 случаях. В зависимости от интенсивности флуоресценции метастатических очагов были сформированы две группы. В первую группу вошли пациенты, у которых была зарегистрирована умеренная или яркая флуоресценция церебральных очагов во время операции, во

вторую группу – пациенты со слабой или отсутствием флуоресценции опухолей (Рис. 87). Численность первой группы составила 25 наблюдений, второй группы – 16 наблюдений. В первой группе было зарегистрировано 17 летальных исходов, во второй группе – 6. Медиана общей выживаемости пациентов первой группы составила 457 дней (95% ДИ: 315-600 дней). Медиана общей выживаемости во 2 группе составила 703 дня (95% ДИ: 521-885 дней), (Таблица 37).

Таблица 37 - Анализ общей выживаемости у пациентов с метастатическим поражением головного мозга, ($p=0.148$).

Характеристика свечения	Число пациентов	Число летальных исходов	Медиана общей выживаемости
Не светится/слабо светится	16	6	703 дня (95% ДИ: 521-885 дней)
Умеренное/яркое свечение	25	17	457 дней (95% ДИ: 315-600 дней)

Сравнение групп с помощью логарифмического рангового критерия не выявило различий между группами ($p=0,148$), однако можно отметить, что общая выживаемость пациентов в группе с умеренно и ярко флуоресцирующими очагами несколько меньше по сравнению с группой с отсутствием или слабой флуоресценцией метастазов, хотя уровень статистической значимости достигнут не был (Рисунок 83).

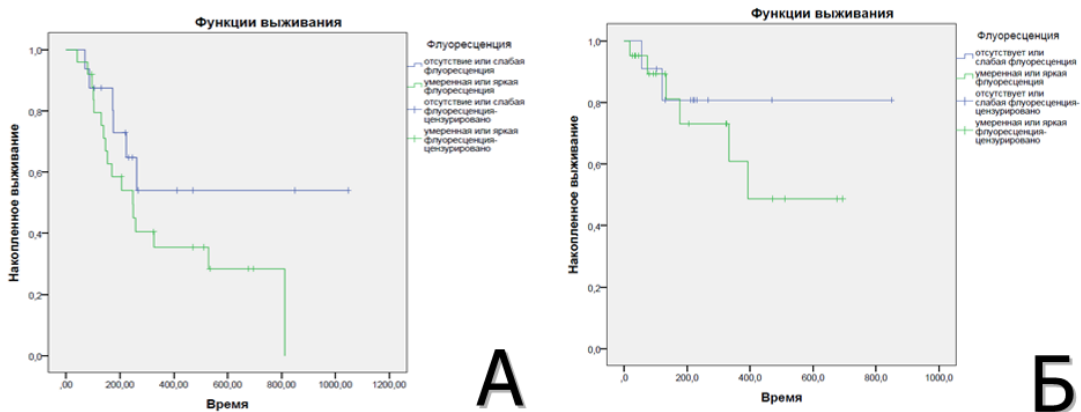


Рисунок 83 - Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемость пациентов с флуоресцирующими и нефлуоресцирующими метастазами в головном мозге.

Безрецидивная выживаемость. Данные о рецидивах были известны в 32 из

63 случаев. Локальный рецидив был зарегистрирован в 8 случаях. Аналогичным образом в зависимости от интенсивности флуоресценции метастатических очагов были сформированы две группы. В первую группу вошли пациенты, у которых была зарегистрирована умеренная или яркая флуоресценция церебральных очагов во время операции, во вторую группу – пациенты со слабой или отсутствием флуоресценции опухолей (рис.). Численность первой группы составила 21 наблюдение, второй группы – 11 наблюдений. В первой группе было зарегистрировано 6 случаев локального рецидива опухоли, во второй группе – 2 случая. Средняя безрецидивная выживаемость пациентов первой группы составила 376 дней (95% ДИ: 249-503 дня), пациентов второй группы – 647 дней (95% ДИ: 402-892 дня). Статистический анализ с помощью логарифмического рангового критерия не выявил статистически значимых различий между пациентами групп сравнения по безрецидивной выживаемости ($p=0,5$). Таким образом, у пациентов с умеренной и яркой флуоресценцией отмечалось недостоверное уменьшение безрецидивной выживаемости по сравнению с пациентами с отсутствием свечения или слабой флуоресценцией (Таблица 38).

Таблица 38 - Медиана безрецидивного периода у пациентов с метастатическими узлами ($p=0,5$).

Тип свечения	Число пациентов	Число рецидивов	медиана
Слабая/отсутствие свечения	11	6	647 дней (95% ДИ: 402-892 дня)
Умеренная/яркая флуоресценция	21	2	376 дней (95% ДИ: 249-503 дня).

9.4 Анализ радикальности оперативных вмешательств у пациентов с интракраниальными метастазами

Данные о МРТ после операции с контрастированием известны у 20 пациентов, из них у 16 отмечалось отсутствие контрастирования в зоне операции (радикальная резекция), у 4 выявлены небольшие остатки (субтотальное удаление). Их объемы у 4 пациентов составили от 0,48 см³ до 2,86 см³. У 2 пациентов

флуоресценция во время резекции отсутствовала, в связи с чем выявление остатка опухоли с использованием метаболической навигации было затруднительно, у 2 пациентов локализация метастазов была вблизи двигательной коры, при этом 1 операция была повторная (в ее ходе на фоне проведенного ранее хирургического лечения и лучевой терапии отмечалось отсутствие четкой границы между опухолью и мозговой тканью).

9.5. Неврологические исходы у пациентов с интракраниальными метастазами

Улучшение по шкале Карновского после операции отмечалось у 44 пациентов (69,8 %), состояние без динамики – 12 пациентов (19 %), ухудшение – у 7 пациентов (11,1%), из них у 1 пациента отмечалось кровоизлияние в ложе удаленной опухоли, потребовавшее ревизионной операции, после которой состояние пациента было с положительной динамикой. У 2 пациентов ухудшение в ближайшем послеоперационном периоде было связано с тяжелым соматическим состоянием в связи с экстрацеребральными очагами, у 2 произошло транзиторной нарастание гемипареза в связи с близостью двигательных зон к опухоли, у 2 – нарастание речевых нарушений, в течении 2 месяцев явления афазии регрессировали. У 9 (14%) пациентов в ближайшем послеоперационном периоде отмечалась положительная картина в виде регресса офтальмоскопических признаков внутричерепной гипертензии.

Резюме главы 9

Чувствительность ФД в хирургии интракраниальных метастазов составляет 84,7%, при этом слабое свечение отмечается в 22,9%. Это дает основание считать метод флуоресцентной диагностики в данной категории пациентов высокоэффективным. На степень свечения метастазов в головной мозг достоверно влияет первичный источник, так интенсивность флуоресценции достоверно выше в группе рака легкого (частота яркого свечения до 81%), в то время как наименьшая по выраженности флуоресценция наблюдалась в группе рака молочной железы

(частота слабого свечения до 50%). Кроме этого, значимо на флуоресцентный эффект влияют такие факторы, наличие интраоперационного кровотечения, а также время с момента радиохирургического воздействия при проведении предоперационной радиохирургии.

Имеется тенденция снижения общей и безрецидивной выживаемости у пациентов в группе с умеренно и ярко флуоресцирующими очагами по сравнению с группой с отсутствием или слабой флуоресценцией интракраниальных метастазов.

Глава 10 Сравнительный анализ применения метаболической навигации для выявления опухолевых клеток в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности и интракраниальных метастазов

10.1 Сравнительный анализ флуоресценции визуально неизмененного белого вещества в перифокальной зоне в белом и флуоресцентном свете при глиомах высокой степени злокачественности

Выполнено исследование 75 ложей удаленных глиом высокой степени злокачественности (21 анапластическая астроцитома, 8 – анапластических олигодендроглиом и 46 глиобластом). Выполнена оценка флуоресценции в конце основного этапа удаления опухоли – в ложе. В 25 наблюдениях при инспекции ложа удаленной опухоли в белом свете хирургом отмечены остатки опухоли. Во всех наблюдениях данные остатки флуоресцировали. У 50 пациентов при визуальной оценке ложа удаленной опухоли в белом свете остатков опухоли не выявлено. Однако, у 32/50 (64%) наблюдений выявлено свечение перифокальной зоны опухоли в ложе (Таблица 39). При этом яркое свечение отмечено у 18 пациентов (36%), умеренное – у 9 (18%), слабое – у 5 (10%).

Таблица 39 - Сравнительный анализ флуоресценции и инспекции ложа удаленной глиомы высокой степени злокачественности в белом и флуоресцентном режимах.

Вид в ложе опухоли в белом свете	Визуально опухоль есть 25/75 (33,3%)	Визуально опухоли нет 50/75 (66,7%)
Вид в ложе в режиме флуоресценции	Свечение 25/25 (100%)	Свечение 32/50 (64%)
Дополнительная биопсия из зоны свечения	Не бралась	16/18 (яркое свечение) 6/14 (неяркое свечение)
Дополнительная биопсия из несветящейся зоны	Не бралась	3/18
Доудаление остатков опухоли	12/25	11/18 (яркое свечение) 4/6 (неяркое свечение)
Всего	75 (100%)	

При исследовании флуоресцирующей перифокальной зоны ложа удаленной опухоли (визуально неизменной в белом свете) с помощью дополнительных

биопсий (1-2 биопсии из каждой зоны флуоресценции в ложе) во всех случаях при яркой флуоресценции при дополнительной биопсии выявлены опухолевые клетки (17/19, 89.4%). При умеренном и слабом свечении из 13 наблюдений опухолевые клетки выявлены только у 3 пациентов (23%), (Таблица 40).

Таблица 40 - Исследование связи флуоресценции в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности и наличия или отсутствия в них опухолевых клеток.

Параметр	Свечение в ложе	Клетки опухоли +	Клетки опухоли -	p
n		23	27	
Свечение в ложе (%)	да	20 (87.0)	12 (44.4)	0.003
	нет	3 (13.0)	15 (55.6)	
Сила свечения в ложе (%)	нет	3 (13.0)	15 (55.6)	<0.001
	слабое	1 (4.3)	4 (14.8)	
	умеренное	2 (8.7)	6 (22.2)	
	яркое	17 (73.9)	2 (7.4)	

Таким образом, при инспекции ложа удаленной в белом свете глиомы высокой степени злокачественности в 64% случаях отмечено свечение в ложе. В 89.4% случаев при яркой флуоресценции визуально неизмененного белого вещества в перифокальной зоне выявлены опухолевые клетки (Рисунок 84).

При отсутствии флуоресценции в ложе у 18 пациентов с глиомами высокой степени злокачественности только в 3 наблюдениях выявлены опухолевые клетки в биоптатах.

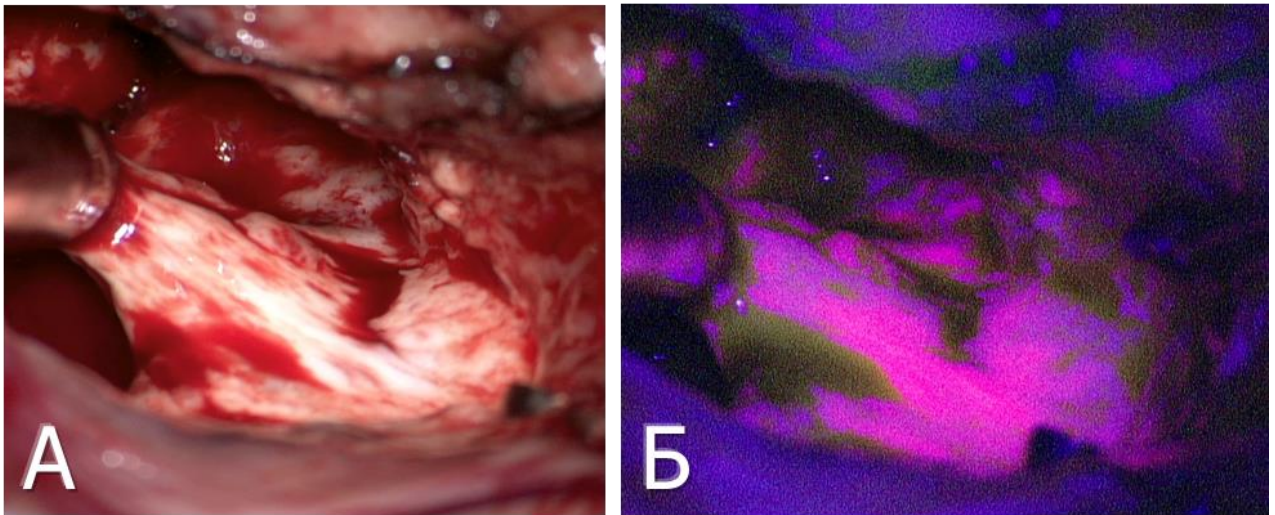


Рисунок 84 - Флуоресценция в конце этапа удаления глиобластомы в ложе удаленной анапластической астроцитомы. В белом свете (А) отмечается визуально неизмененное вещество мозга, а в режиме флуоресценции (Б) – яркое свечение в перифокальной зоне. Выполнено доудаление остатков опухоли.

При выявлении флуоресценции в ложе удаленной глиомы высокой степени злокачественности доудаление флуоресцирующей части опухоли выполнялось в зависимости от функциональной значимости прилежащей зоны мозга.

Из 18 случаев с яркой флуоресценцией это было возможно в 11 наблюдениях до редукции флуоресценции. В 7 случаях доудаление ярко светящейся перифокальной зоны опухоли было невозможно ввиду наличия моторных ответвлений (6 наблюдений) и появления речевых нарушений у 2 пациентов (Рисунок 85).

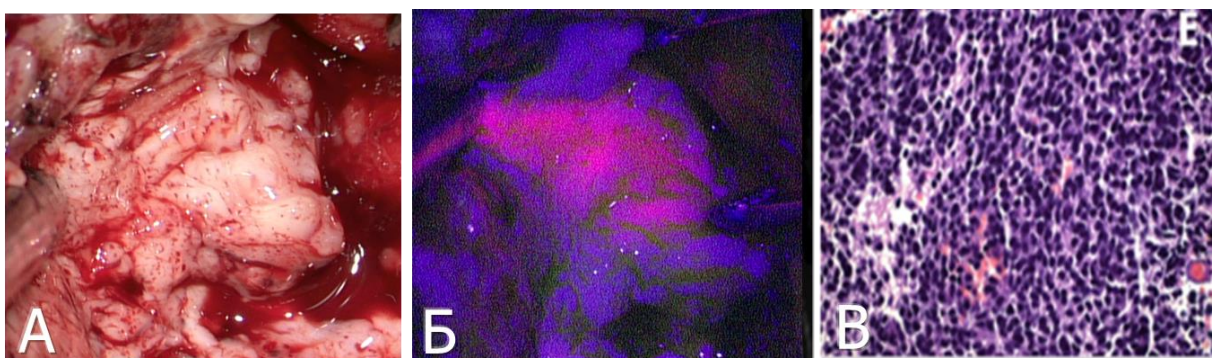


Рисунок 85 - Флуоресцентная диагностика в ложе удаленной опухоли (глиобластома). Яркая флуоресценция в ложе (Б), при визуальном отсутствии опухоли (А). Выявлены опухолевые клетки глиобластомы в биоптатах (В).

Ниже представлены результаты исследования взаимосвязи яркого свечения в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности и наличия или отсутствия в них опухолевых клеток при дополнительных биопсиях (Таблица 41, Рисунок 86).

Таблица 41 - Связь флуоресценции в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности и наличия опухолевых клеток в биоптатах.

Параметр	level	Опухолевые клетки в ложе		p
		+	-	
n		20	12	
Сила свечения в ложе (%)	1	1 (5.0)	4 (33.3)	0.001
	2	2 (10.0)	6 (50.0)	
	3	17 (85.0)	2 (16.7)	

Примечания к таблице: сила свечения в ложе – 0 – отсутствует, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – яркая.

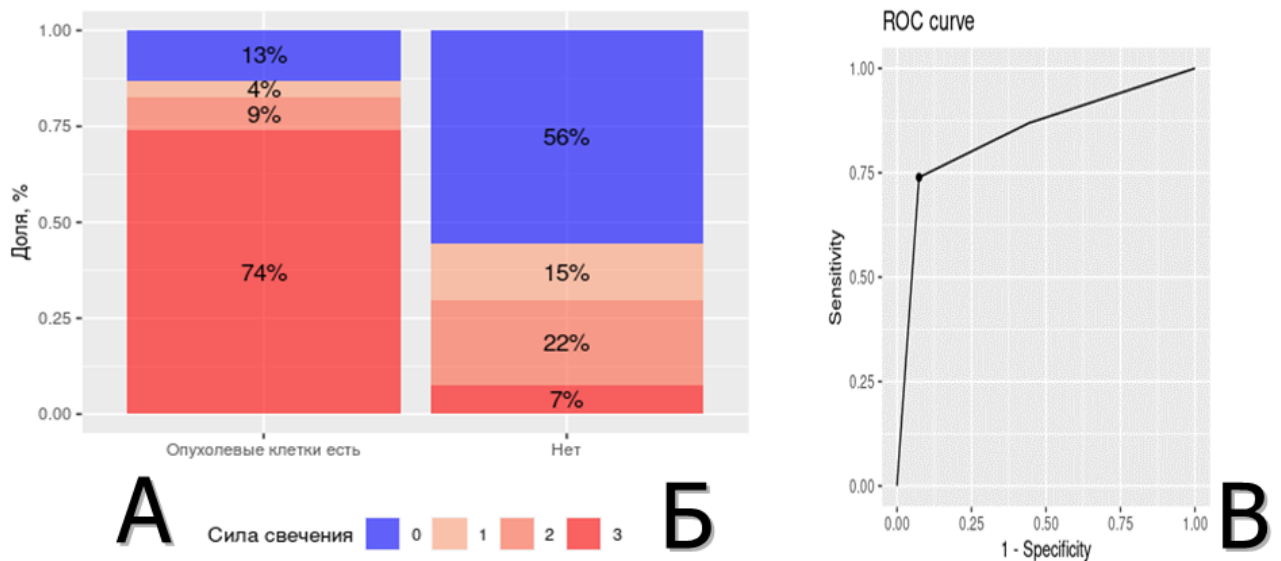


Рисунок 86 - Связь флуоресценции в ложе удаленной опухоли и наличия (А) или отсутствия (Б) в ней опухолевых клеток. В – ROC кривая. – при ярком свечении чувствительность обнаружения опухолевых клеток в ложе составляет 74%, специфичность – 92,5%.

Таким образом, при в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности в 64% случаев при визуальном отсутствии опухоли в белом свете отмечалась остаточная флуоресценция (яркая – в 36% случаев).

При ярком свечении в 85% наблюдений в перифокальной зоне глиом высокой степени злокачественности выявлены опухолевые клетки (Рисунок 87).

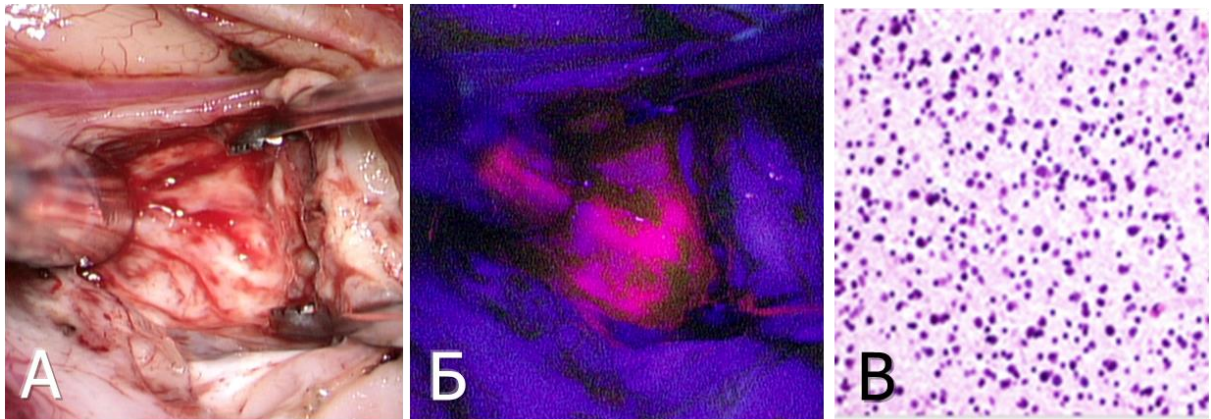


Рисунок 87 - Видимая яркая флуоресценция в ложе при визуально слабо измененном белом веществе в ложе удаленной анапластической астроцитомы (А – в белом свете макроскопически опухоль не выявляется, Б – яркая флуоресценция в ложе удаленной опухоли, в – в биоптате, взятом из зоны свечения в ложе, выявлены опухолевые клетки (В)).

10.2 Исследование флуоресцентного эффекта в ложах удаленных интракраниальных метастазов

В нашей выборке из 63 пациентов с оперированными метастазами ложе удаленных метастазов флуоресцировало у 56 пациентов (89%). При этом у 22 пациентов с флуоресцирующим ложем выполнены множественные биопсии из ложа для оценки наличия или отсутствия в нем опухолевых клеток. Ниже приводятся данные о функциональной значимости - ФЗЗ значимые зоны (речевые и двигательные) были выявлены у 10 пациентов, у 12 пациентов метастазы были вне зон функциональной значимости (Приложение И).

Всего исследовано 48 биоптатов у 22 пациентов из ложа удаленных метастазов, при этом в 25 биоптатах в зоне флуоресценции выявлены опухолевые клетки (52%), в остальных флуоресцирующих биоптатах (23 или 48%) опухолевые клетки не выявлены (Таблицы 42-43).

Таблица 42 - Свечение биоптатов в ложе удаленных метастазов.

Переменная	Уровень свечения	Значение
N		48
Свечение (%)	розовое	32 (66.7%)
	слабое	12 (25.0%)
	яркое	4 (8.3%)
Наличие опухолевых клеток (%)	да	25 (52.1%)
	нет	23 (47.9%)

Таблица 43 - Распределение показателей с опухолевыми клетками и без них во взятых биоптатах.

Параметр	Уровень	розовое	слабое	яркое	p
N		32	12	4	
Наличие опухолевых клеток (%)	да	17 (53.1)	6 (50.0)	2 (50.0)	1.000
	нет	15 (46.9)	6 (50.0)	2 (50.0)	

При ROC анализе не выявлено влияние флуоресценции в ложе удаленных метастазов на обнаружение опухолевых клеток (Рисунок 88).

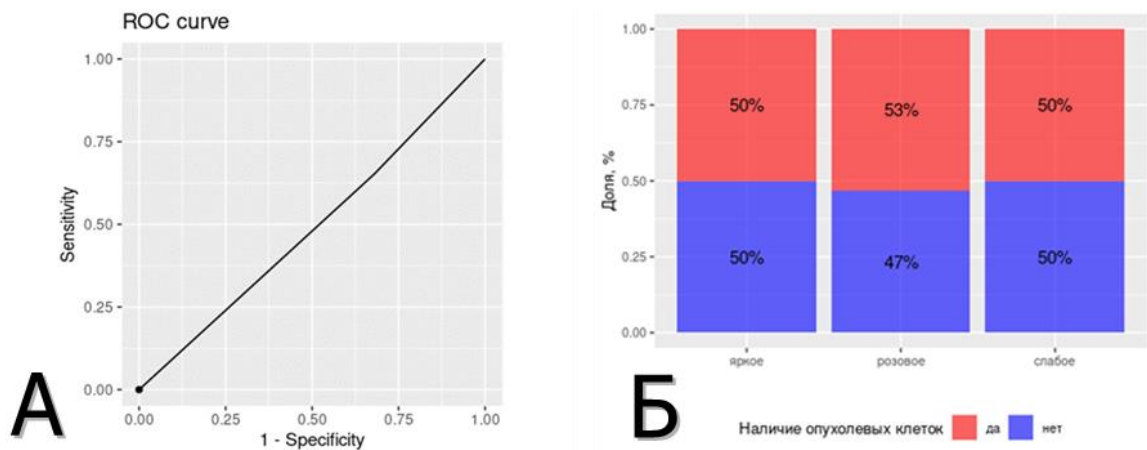


Рисунок 88 - ROC анализ чувствительности и специфичности флуоресценции в ложе удаленных метастазов (А) и связь флуоресценции и наличия или отсутствия опухолевых клеток при различной степени свечения в ложе (Б)

При принятии решения о супрамаргинальной резекции с включением в зону удаления флуоресцирующего ложа данные манипуляции могли быть выполнены при локализации флуоресцирующего ложа за пределами ФЗЗ у 12 пациентов. Однако, из них опухолевые клетки имелись в биоптатах только у 8 пациентов – этим пациентам выполнена супратотальная резекция флуоресцирующего ложа до редукции видимой флуоресценции. Ввиду отсутствия вблизи данных участков моторных и речевых зон нарастания очаговой неврологической симптоматики у данных пациентов не выявлено.

Клиническое наблюдение 29

Ж., 60 лет. Множественные метастазы рака молочной железы в головной мозг. Слабая флуоресценция ложа удаленной опухоли со взятием дополнительной биопсии из зоны свечения. Вне опухолевый синтез ПП IX в отечной мозговой ткани (Рисунок 89).

Заключение патоморфолога по множественным биопсиям из ложа:

I. Материал дополнительной пробирки 1. В данном препарате выявляется фрагмент мозговой ткани с единичными нейрональными элементами. Глиальные клетки несколько дистрофичны. Нейроны также уменьшены в размерах и имеют не резко выраженные признаки дистрофии.

II. Материал дополнительной пробирки 2. В представленном препарате наблюдается мозговая ткань с небольшими реактивными изменениями. Определяются небольшие дистрофические изменения глиального компонента. Нейроны в ткани представлены единичными клетками.

III. Основной материал. В данном препарате выявляется участок опухолевой ткани и мозговая ткань. Определяется умеренный клеточный полиморфизм, встречаются клетки овоидной и округлой формы, средних и крупных размеров, выражена эозинофилия цитоплазмы. Ядра умеренно полиморфные, округлой формы, средних и крупных размеров, с повышенной интенсивностью окраски хроматина, выражена ядерная атипия. Кроме того встречаются гигантские клетки

неправильной формы с крупными уродливыми полигональными ядрами. Определяются гистиоархитектонические структуры с формированием псевдодолек. Наблюдается умеренное количество митозов. Выявляются некротические изменения в ткани.

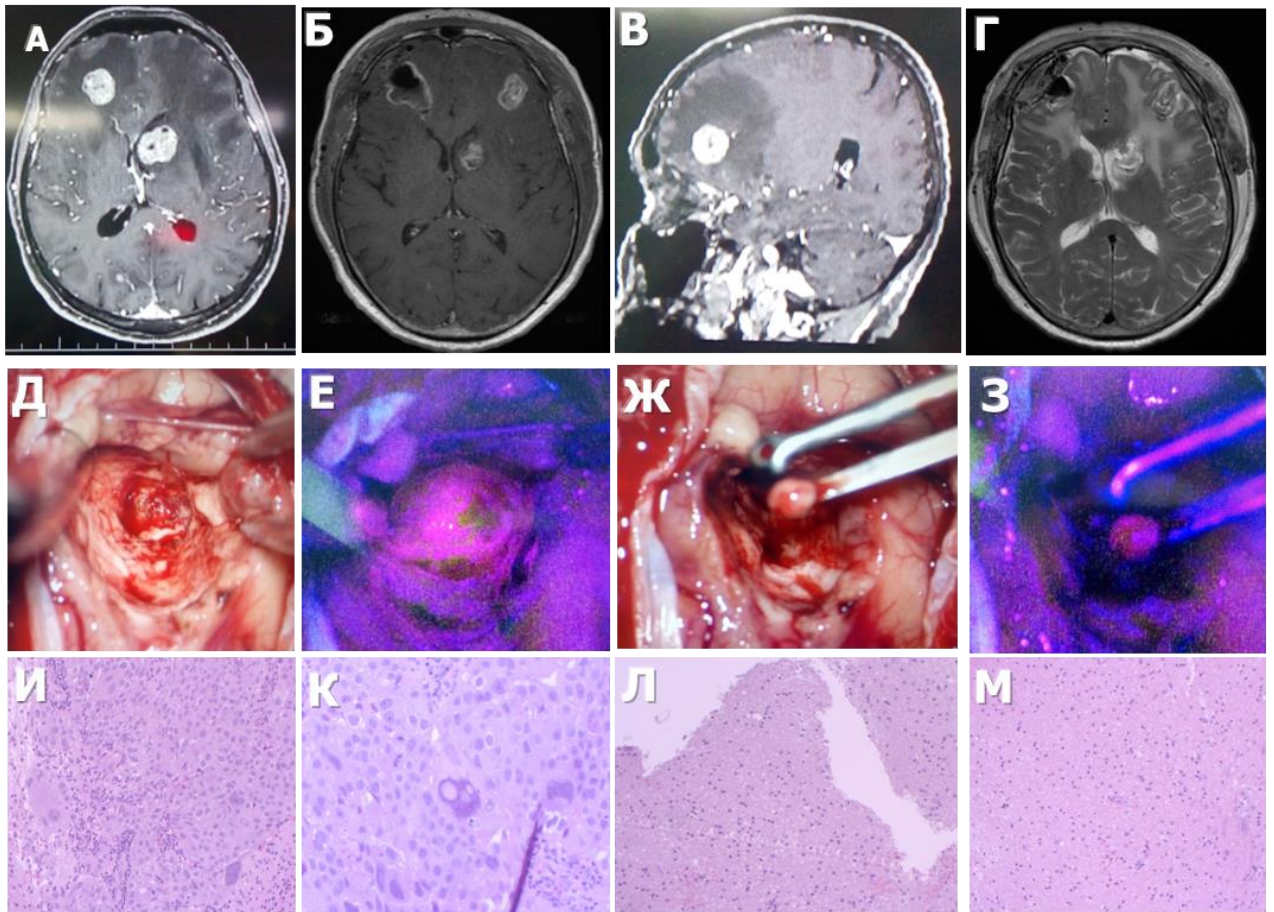


Рисунок 89 - Клиническое наблюдение 29. Пример флуоресценции в ложе удаленного метастатического узла у пациентки с множественными узлами на фоне рака молочной железы, взятие дополнительных биоптатов. А, Б: дооперационные МРТ с контрастированием, аксиальные срезы на разных уровнях, В - : сагиттальный срез в режиме T1 с контрастированием, Г - послеоперационная МРТ в режиме T2 в раннем послеоперационном периоде, Д и Е - последовательная визуализация интраоперационных фотографий в белом и флуоресцентном режимах микроскопа в конце основного этапа удаления узла, и при взятии дополнительной биопсии из ложа (Ж и З) . Визуализируется ложе удаленного метастаза в белом и синем свете, отмечается яркое свечение в ложе. Взятие дополнительных биопсий из зоны свечения в ложе, в пинцете – биоптат, он флуоресцирует. И-, К, Л, М - патоморфологическое исследование. И - материал основного опухолевого узла (И - увеличение X100, К – X 200). Л и М - содержимое флуоресцирующих зон в ложе удаленных узлов – мозговая ткань, опухолевой ткани не выявлено.

Иммуногистохимическое исследование: при проведении иммуногистохимического исследования выявляется положительная экспрессия СК 7, эстрогеновых рецепторов+, прогестероновых рецепторов+, HER2neu+++, GCDFP-15 в единичных клетках, отрицательная экспрессия в клетках опухоли маммоглобина, ИМ Ki-67 составляет 24%. Данные гистологического и иммуногистохимического исследований соответствуют метастазу карциномы молочной железы, молекулярно-биологический подтип люминальный Б с экспрессией HER2neu. Таким образом, в светящемся ложе удаленного метастатического узла опухолевых клеток не выявлено.

Клиническое наблюдение 30

Ж., 63 лет, метастаз меланомы в правой лобной доле. Яркое свечение основной ткани метастаза меланомы, свечение в ложе удаленной опухоли. Взяты дополнительные биопсии (Рисунок 90-91).

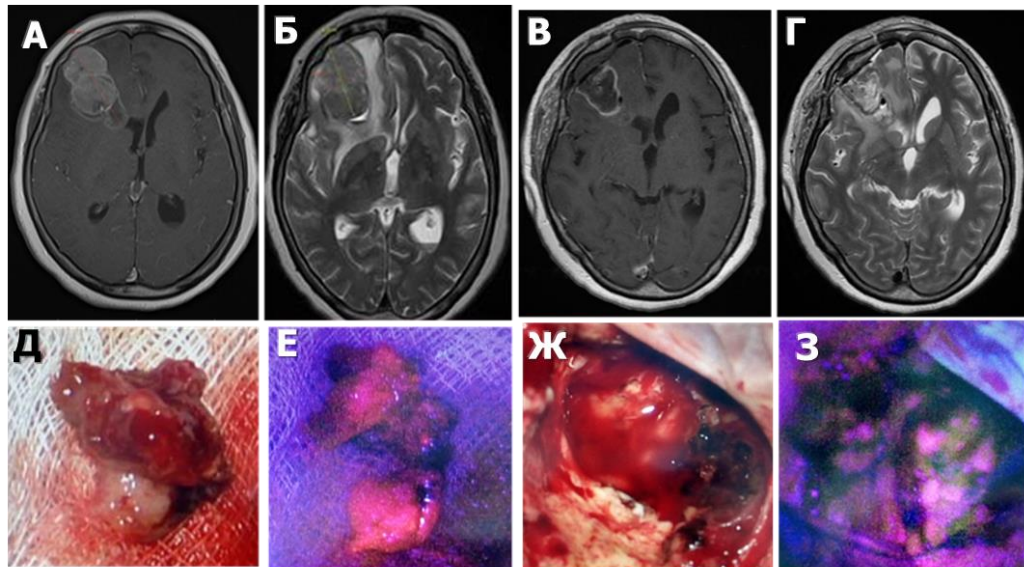


Рисунок 90 - Ж., 63 лет. Клиническое наблюдение 30. Дооперационное МРТ у пациентки с метастазом меланомы в правой лобной доле. А и Б: МРТ в T1 и T2 режимах до операции с контрастированием, аксиальные срезы; В и Г - МРТ с контрастированием в T1 и T2 режимах после операции, Д - удаленный узел с перифокальным отеком, Е - яркое свечение узла меланомы, Ж - вид послеоперационной полости после операции в белом и З – вид послеоперационной полости во флуоресцентном режиме.

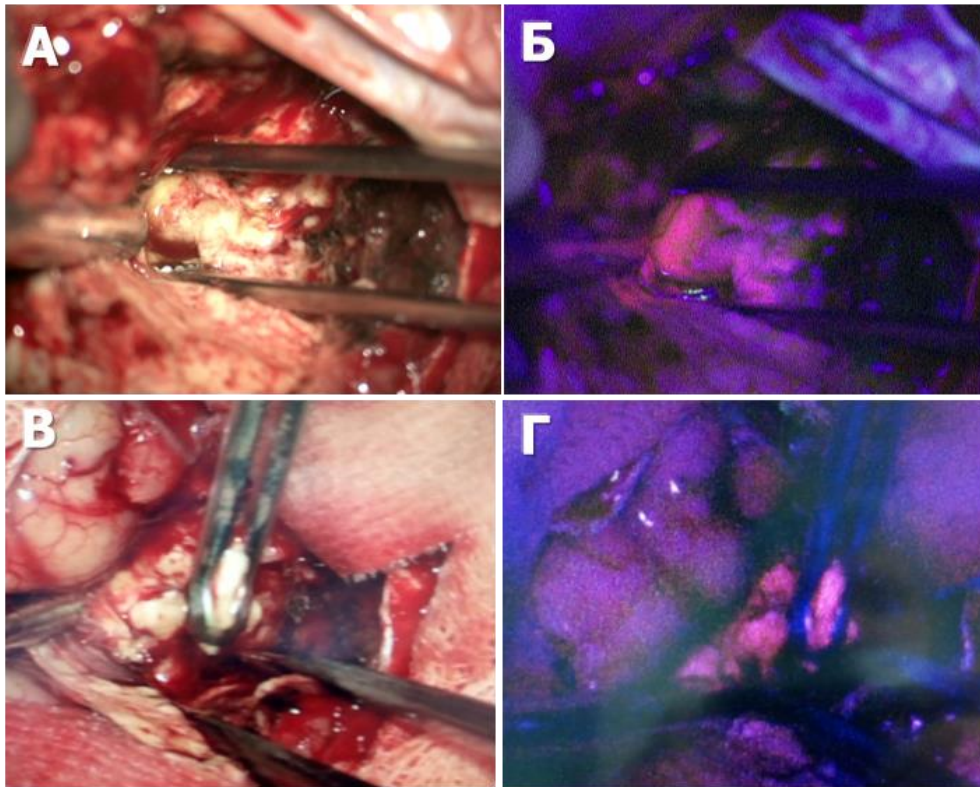


Рисунок 91 – Ж., 63 лет. Клиническое наблюдение 30 (продолжение). Взятие дополнительной биопсии из флуоресцирующего ложа после удаления основного узла. А – вид ложа в белом свете, Б – флуоресценция ложа в синем свете, В – взятие дополнительной биопсии в ложе, вид в белом свете: выявление в 2 из 4 дополнительных биопсиях из ложа опухолевых клеток при последующем патоморфологическом исследовании. Г - взятие дополнительной биопсии в ложе, вид во флуоресцентном режиме.

Заключение патоморфолога: Биоптат №1. - глиальная ткань с выраженной гиперплазией глии. Биоптаты №2-3 (дополнительные биопсии из зоны свечения) - метастаз меланомы. Иммуногистохимическое исследование: положительная экспрессия HMB45, MelA. Таким образом в 1 дополнительной биопсии опухоли не выявлено, в 2 других – выявлена. Все 3 зоны светились розовым светом в послеоперационной полости после удаления основного узла опухоли.

Клиническое наблюдение 31

Пациент М., 55 лет, внутримозговая опухоль (метастаз) теменной доли. Комплексное предоперационное планирование с выполнением фМРТ (идентифицированы корковые двигательные зоны) и МР трактографии с построением пирамидного тракта. Предоперационное планирование и начальный этап операции: яркая флуоресценция коры, пораженной опухолью. Моторные зоны руки и ноги на фМРТ оттеснены опухолью кпереди и медиально. Пирамидный тракт смещен опухолью кпереди. Использована нейронавигационная система Фиагон (электромагнитная навигация) - Рисунок 92.

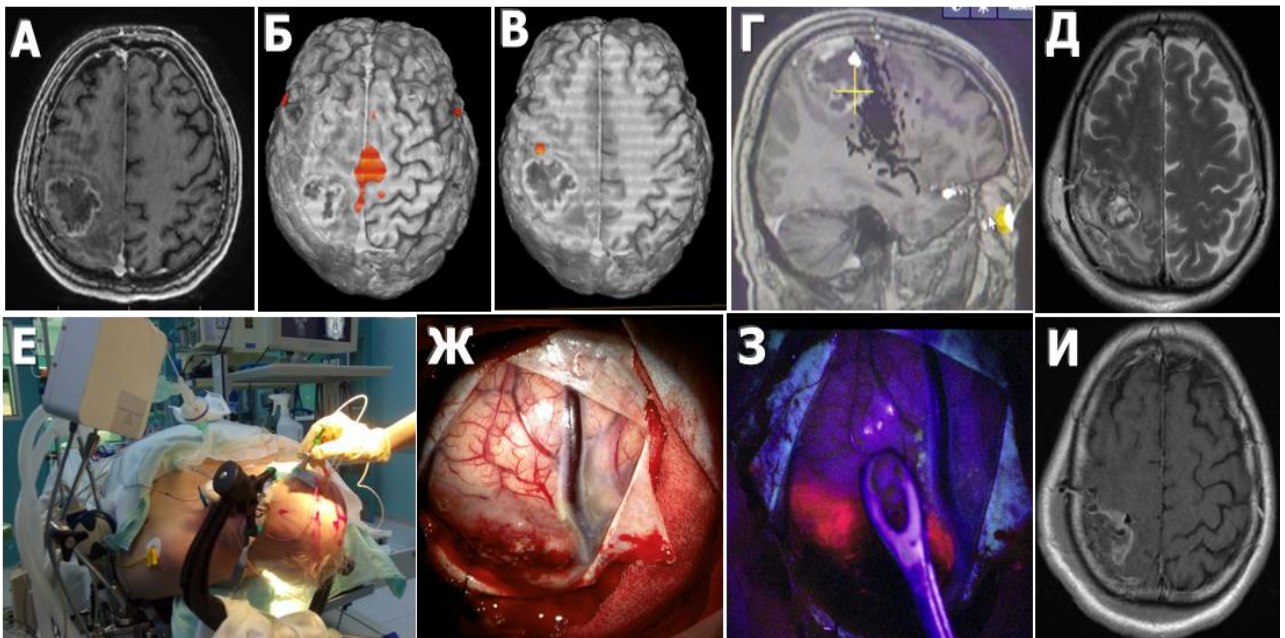


Рисунок 92 - М., 55 лет, клиническое наблюдение 31, пример использования метаболической навигации и предоперационного планирования у пациента с метастазом в правой теменной доле вблизи корковых двигательных зон и пирамидного тракта. А - предоперационная МРТ с контрастированием, аксиальный срез в T1 режиме; Б – функциональная МРТ с картированием двигательной зоны ноги; В – функциональная МРТ с картированием двигательной зоны руки, расположена кпереди от опухоли, Г - сагиттальный срез в T1 режиме с интегрированными данными МР трактографии (пирамидный тракт) в навигационную систему, Д – МРТ после операции, T2 режим, аксиальный срез; Е - этап регистрации пациента в нейронавигационной системе, Ж - интраоперационные фотографии с микроскопа в белом и синем (З) свете. Яркая флуоресценция основного узла. МРТ после операции в T1 режиме с контрастированием, аксиальный срез.

По данным срочного гистологического исследования - метастаз аденокарциномы. Во время оперативного вмешательства в связи с близким расположением опухоли к волокнам пирамидного тракта использован метод поточечной моно и биполярной электрической стимуляции волокон пирамидного тракта в ране (Рисунок 93).

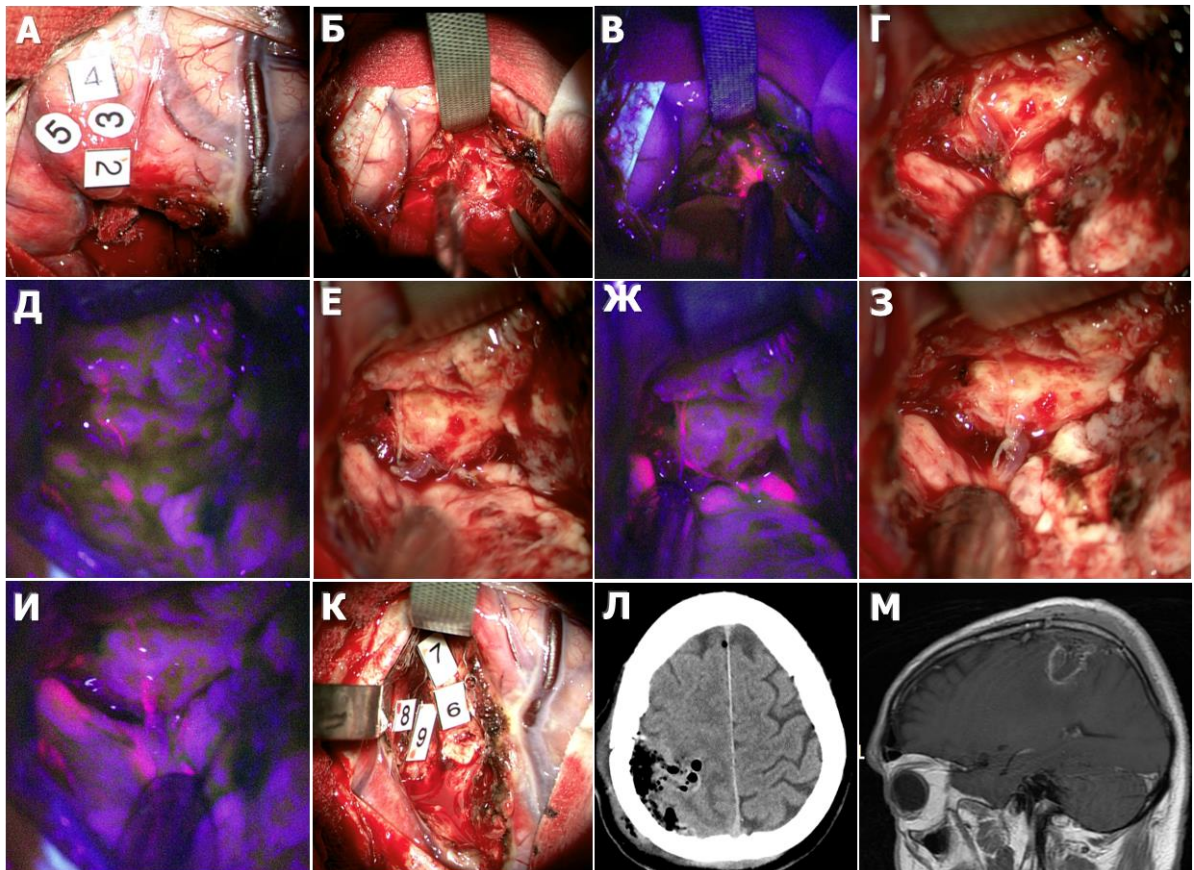


Рисунок 93 - М., 55 лет, клиническое наблюдение 31 (продолжение). Этапы удаления опухоли, вид в белом и флуоресцентном режимах (предыдущий пациент). Хорошо визуализируется «интактная» в белом свете ткань мозга, ярко светящаяся при флуоресценции. Также показано свечение опухолевого сосуда в ране. А – картирование коры, обозначены зоны моторных ответов, Б – этап удаления опухоли, вид в белом свете; В – этап удаления опухоли, вид во флуоресцентном режиме, яркое свечение; Г – конечный этап удаления опухолевого узла, вид в белом свете; Д, Ж - конечный этап удаления опухолевого узла, вид во флуоресцентном режиме; З – вид операционной раны перед этапом гемостаза, И – остаточная флуоресценция в зоне опухолевого отека, К – зоны моторных ответов в ложе, волокна пирамидного тракта, Л – СКТ после операции, аксиальный срез, М – МРТ после операции, T2 режим с контрастированием, сагиттальный срез.

В ложе опухоли получены моторные ответы от пирамидного тракта. Также получены ранее отсутствующие ответы с моторной коры прецентральной извилины (слева), явление так называемой «острой» нейропластичности» [147].

Неврологический исход: легкий гемипарез слева до операции нарос в первые сутки до грубого с последующим полным регрессом к 7 суткам.

Послеоперационное МРТ: тотальное удаление контрастируемой части опухоли. Пирамидный тракт сохранен, в зоне отека.

Заключение патоморфолога: 9440/3 Глиобластома, WHO Grade IV, с наличием псевдогландулярных структур. При проведении молекулярно-генетического исследования методом ПЦР в реальном времени с применением ДНК зондов не выявлено наличие мутаций в кодоне 132 в гене IDH1 и в кодоне 172 в гене IDH2. Также при проведении ПЦР в реальном времени не выявлен метил-специфический сигнал, что говорит об отсутствии метилирования промотера гена MGMT.

Дополнительные биопсии:

I. В данном препарате, макроскопически обозначенном как перифокальная зона №1, выявляется ткань злокачественной опухоли. Клетки мелких и средних размеров, с оптически пустой цитоплазмой, неправильной формы, имеющие несколько вытянутый характер на некоторых участках. Ядра клеток мелкие, пузырьковидные с повышенной интенсивностью окрашивания хроматина. Характер роста сплошной, при этом, несмотря на выраженную атипичность клеток, наблюдается лишь умеренное повышение плотности клеточного слоя. Выявляются участки ареактивных некрозов. Также важно отметить наличие довольно выраженных лимфоплазмочитарных инфильтратов в ткани.

II. В представленном препарате, макроскопически обозначенном как флюоресцирующие сосуды, выявляется крошечный фрагмент опухолевой ткани и участок сосудистой стенки. Стенка сосуда деформирована, утолщена, слои сосудистой стенки прослеживаются нечетко, особенно сильно стерты средний и наружный слои. В некоторых фрагментах наблюдается нерезко выраженное врастание опухолевых клеток в сосудистую стенку с нарушением её структуры, однако без инвазии опухолевых клеток в просвет сосуда.

III. Данный препарат, макроскопически представленный как перифокальная зона №2, характеризуется наличием опухолевой ткани и зоны врастания в измененную мозговую ткань. В ткани опухоли выявляются клетки неправильной и несколько вытянутой формы, с оптически пустой цитоплазмой, средних размеров. Обнаруживаются мелких размеров ядра, округлой и неправильной формы, с повышенной интенсивностью окрашивания хроматина. При этом гистологически опухоль имеет сплошной характер роста с небольшой тенденцией к несколько веретеновидному строению. Наблюдается умеренное количество митозов. Выявляется наличие выраженной пролиферации эндотелия сосудов. Важно отметить наличие достаточно обширных лимфоцитарных инфильтратов, располагающихся прямо в зоне врастания опухоли в измененную мозговую ткань. Мозговая ткань дистрофична, в ней наблюдается снижение плотности нейрональных и глиальных элементов.

IV. В данном препарате выявляется злокачественная опухоль. Клетки отличаются выраженным полиморфизмом, встречаются в основном полигональные и неправильной формы клетки с глиальной дифференцировкой, различных размеров, как мелкие, так и крупные, цитоплазма выражена умеренно. Наблюдается выраженный полиморфизм ядер, определяются ядра неправильной, округлой и овальной формы, средних размеров, обнаруживается выраженная ядерная гиперхромия. Рост опухоли характеризуется наличием группирования части опухолевых клеток вокруг сосудов с образованием псевдогландулярных структур, имитирующих псевдожелезистый характер расположения опухолевых клеток вокруг сосудов. На других участках характер роста опухоли сплошной. Выявляются крупные по размеру ареактивные некрозы. Визуализируются очаги выраженной пролиферации эндотелия сосудов.

Иммуногистохимическое исследование: при иммуногистохимическом исследовании выявляется отрицательная экспрессия продукта мутантного гена IDH1, Melan-A, CK AE1/AE3, положительная экспрессия GFAP. Таким образом, у данного пациента при срочной биопсии первоначально был поставлен диагноз метастаза аденокарциномы, позднее не подтвержденный. Окончательный диагноз

– глиобластома. Во всех 4 дополнительных биопсиях светящегося ложа выявлена опухолевая ткань, соответствующая инфильтративной части опухоли.

Клиническое наблюдение 32

Ж., 60 лет, метастаз рака молочной железы в правую лобную область. Флуоресценция ложа розовым цветом, из данной зоны взяты 3 дополнительных биопсии (в 3 дополнительных биоптатах, взятых из слабо флуоресцирующего ложа опухолевых клеток не выявлено) - Рисунок 94.

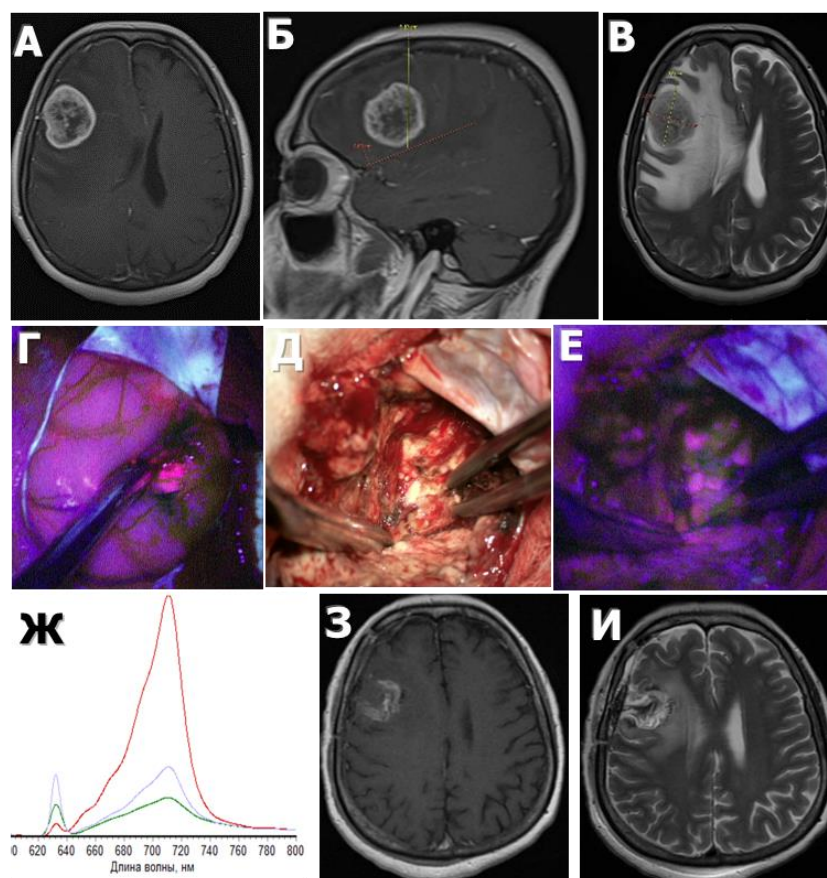


Рисунок 94 - Ж.. 60 лет, клиническое наблюдение 32. Взятие дополнительной биопсии у пациентки с метастазом рака молочной железы в правой лобной доле. А - дооперационная МРТ, аксиальный срез в T1 режиме с контрастом, Б - сагиттальный срез в T1 режиме с контрастом, В - аксиальный срез в T2 режиме, выраженный перифокальный отек вокруг опухоли; . Г - интраоперационные фотографии с микроскопа, этап флуоресценция опухолевого узла, яркое свечение, Д – вид ложа в белом свете, Е – вид ложа во флуоресцентном режиме, отмечается бледно-розовое свечение; Ж – спектрограмма из ложа опухоли, отмечается повышение уровня накопления протопорфирина; З, И - послеоперационная МРТ, аксиальные срезы в T1 и T2 режимах (остатков опухоли нет).

Следует отметить, что в нашей серии пациентов преобладали больные с метастазами рака молочной железы и рака легкого. Ниже приведен клинический пример применения метаболической навигации у пациентки с метастазом рака молочной железы в левой лобной доле. Во время оперативного вмешательства отмечалась яркая флуоресценция узла, а также выраженная флуоресценция в его ложе.

Клиническое наблюдение 33

Ж., 62 лет, метастаз рака молочной железы в левой лобной доле (Рисунок 95).

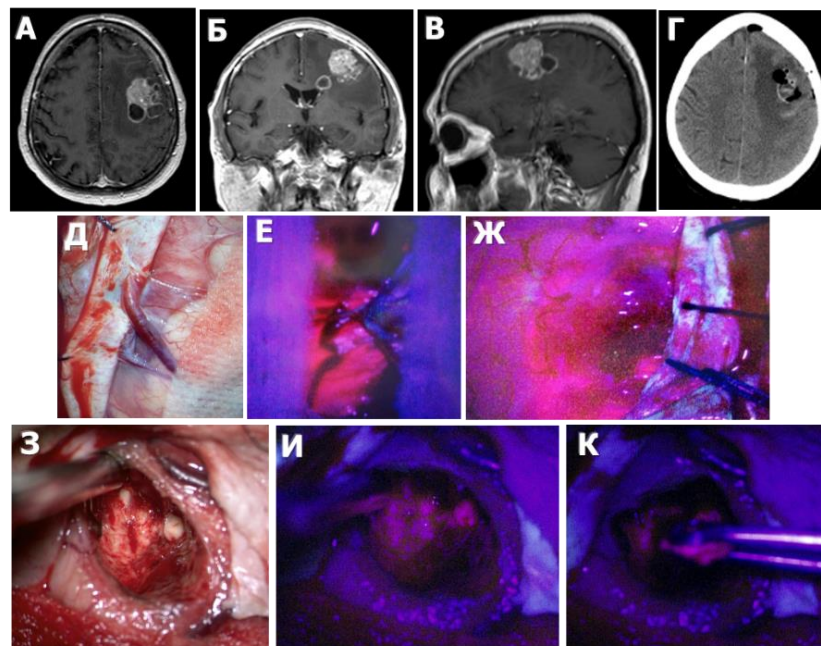


Рисунок 95 - Ж., 62 лет, клиническое наблюдение 33. Использование метаболической навигации у пациентки с ярко флуоресцирующим метастазом рака молочной железы в левой лобной доле. А: МРТ головного мозга до операции с контрастированием в T1 режиме, аксиальный срез, Б - МРТ головного мозга до операции с контрастированием в T1 режиме, коронарный срез, В - МРТ головного мозга до операции с контрастированием в T1 режиме, сагиттальный срез, Г – СКТ головного мозга после операции, аксиальный срез, Д – интраоперационная фотография с микроскопа в белом свете после вскрытия твердой мозговой оболочки: опухоль прорастает кору мозга, Е - интраоперационная фотография с микроскопа во флуоресцентном режиме после вскрытия твердой мозговой оболочки: опухоль прорастает кору мозга, яркое свечение (Ж); З – вид послеоперационной полости в белом свете после удаления узла: визуально отмечается белое вещество лобной доли, И - вид послеоперационной полости в белом свете после удаления узла, отмечается розовая умеренно выраженная остаточная флуоресценция, К – взятие дополнительной биопсии из зоны свечения в ложе удаленной опухоли.

Дополнительная биопсия из зоны флуоресценции в ложе удаленного узла: выявлены опухолевые клетки во всех биоптатах (2). Приведено подробное описание патоморфолога: в полученном биоптате выявляется опухолевая ткань, инфильтративно растущая в мозговое вещество. Опухоль представлена солидными комплексами эпителиальных клеток с четкими границами и обильной цитоплазмой. Отмечается клеточный и ядерный полиморфизм. Ядра клеток светлые, с четкими ядрышками. Выявляются многочисленные митотические фигуры, включая патологические формы. В центре опухолевых комплексов зачастую определяется зона некроза. Наблюдаются следы кровоизлияний различной давности и лимфоидная инфильтрация. Иммуногистохимическое исследование: определяется положительная экспрессия CK7 и Mammoglobin, в единичных клетках выявлена экспрессия ER, PR, GCDFP-15. Индекс мечения Ki-67 до 27%.

Молекулярно-генетическое исследование с помощью метода флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) - амплификации Her 2/neu не выявлено, выявлена полисомия 17 хромосомы. Морфологическое заключение: морфологическая картина и иммунофенотип соответствуют метастазу карциномы молочной железы. Молекулярно-генетическое исследование с помощью метода флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) - амплификации Her 2/neu не выявлено, выявлена полисомия 17 хромосомы.

Ниже приведем клинический пример неспецифической флуоресценции в ложе внутримозговых гематом у пациентки пожилого возраста с множественными кровоизлияниями на фоне церебральной амилоидной ангиопатии. На догоспитальном этапе у пациентки был ошибочно заподозрен многоочаговый процесс в головном мозге вторичной природы, что послужило поводом для оперативного вмешательства с целью гистологической верификации процесса.

Клиническое наблюдение 34

Ж., 75 лет, пример неспецифической яркой флуоресценции ложа удаленной внутримозговой гематомы у пациентки 75 лет с раком легкого в анамнезе.

Многоочаговое поражение мозга было расценено как вторичное, несмотря на отсутствие контрастирования узлов. Неспецифическое свечение стенок послеоперационной полости после удаления внутримозговой гематомы у пациентки с церебральной амилоидной ангиопатией обусловлено аккумуляцией протопорфиринов макрофагами вокруг кровоизлияния. При удалении наиболее крупного кровоизлияния в левой височной доли с целью гистологической верификации опухолевые клетки как при срочной, так и приокончатальной биопсии не выявлены. При этом отмечалось розовое свечение в ложе удаленной гематомы (рис). Состояние пациентки расценено как церебральная амилоидная ангиопатия с множественными кровоизлияниями. Биопсия: Фрагменты глиальной ткани с явлениями гиперплазии. Фрагменты стенки капсулы хронической гематомы. (Рисунок 96).

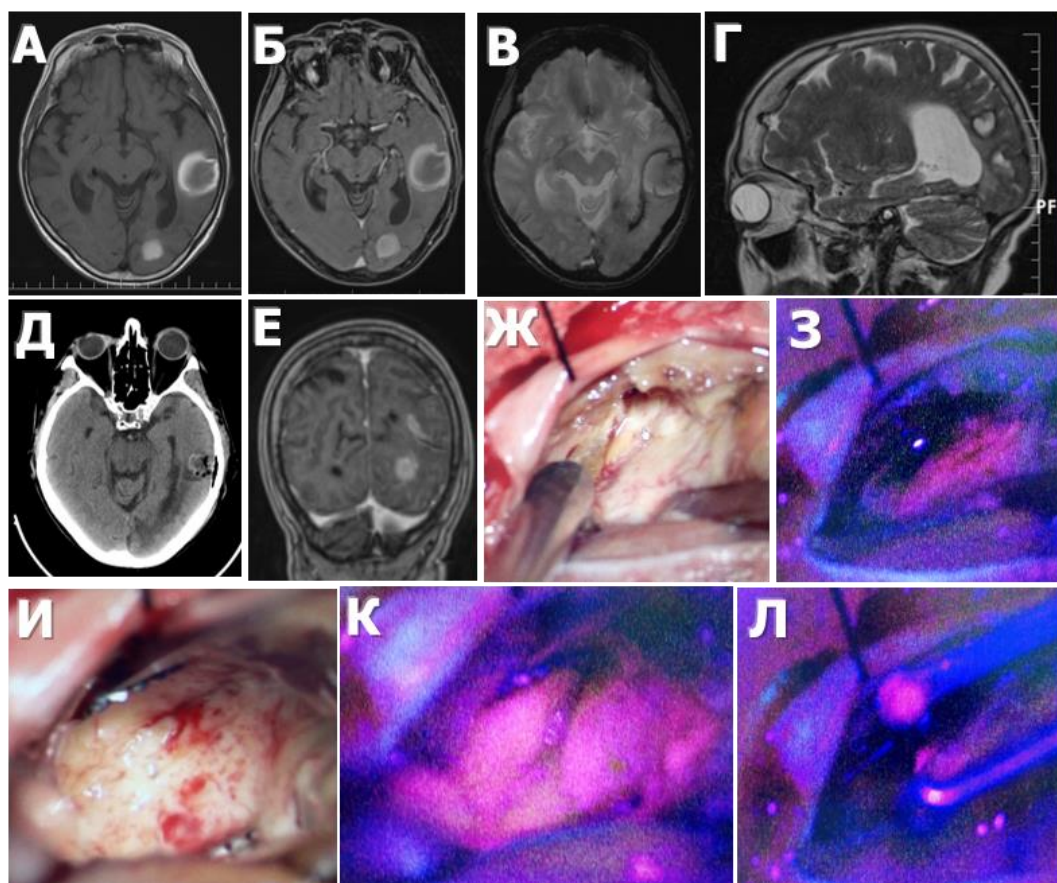


Рисунок 96 - Ж., 75 лет. Клиническое наблюдение 34. А: МРТ головного мозга до операции, T1, аксиальный срез. Визуализируются внутримозговые кровоизлияния в левой височной и затылочной долях. Б – МРТ в T1 режиме с контрастированием, отмечается отсутствие контрастирования, признаков вторичного поражения нет, В – МРТ до операции в T2 режиме, аксиальный срез, Г – МРТ до операции в T2 режиме, сагиттальный срез, выявляются следы перенесенных ранее кровоизлияний в затылочной доле. Д – СКТ, аксиальный срез после операции удаления гематомы в левой височной доле, Е – МРТ до операции, коронарный срез, T1 режим с контрастированием. Ж – интраоперационная фотография в белом свете после удаления внутримозговой гематомы в левой височной доле, З – яркая флуоресценция стенок послеоперационной полости, И - интраоперационная фотография в белом свете после удаления внутримозговой гематомы в левой височной доле, большее увеличение, отмечается вид неизмененного белого вещества височной доли, К - яркая флуоресценция стенок послеоперационной полости, большее увеличение, Л – взятие дополнительной биопсии из ложа.

Резюме главы 10

В ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности при визуальном тотальном удалении опухоли в белом свете может не визуализироваться инфильтративная часть опухоли (до 66% случаев). Однако, при использовании ФД с 5 АЛК при наличии в ложе удаленной глиомы яркого свечения в 85% случаев в нем выявляются опухолевые клетки. Это позволяет считать метаболическую навигацию высокоэффективным методом выявления инфильтративной части глиом высокой степени злокачественности, скрытых от нейрохирурга при операции только в белом поле.

В отличие от глиом высокой степени злокачественности, при исследовании флуоресценции в ложе удаленных интракраниальных метастазов установлено, что свечение ложе этих опухолей выявляет опухолевые клетки только в 52% наблюдений. В остальных случаях при наличии свечения в ложе удаленного метастаза опухолевых клеток нет, а сама флуоресценция является неспецифической и связана с внеопухолевым синтезом протопорфиринов.

В связи с этим, на наш взгляд, при выявлении факта свечения ложа после удаления метастатического узла в головном мозге во время оперативного вмешательства, целесообразно выполнить прицельную срочную биопсию из зоны свечения. После получения результатов дополнительной срочной биопсии нейрохирург вправе принять решение о дополнительной резекции перифокальной зоны с учетом функциональной анатомии мозга. К сожалению, феномен свечения ложа удаленных метастазов остается малоизученным, противоречивым и, на наш взгляд, вносит ограничения в применении метода метаболической навигации у пациентов с интракраниальными метастазами. Безусловно, требуется проведение дальнейших исследований в данном направлении.

Глава 11 Применение спектроскопических технологий в нейроонкологии

11.1 Лазерная спектроскопия в хирургии интракраниальных менингиом и метастазов

Количественная спектроскопия выполнена у 46 пациентов с интракраниальными менингиомами и метастазами. Ниже приводятся данные этих исследований. Лазерная спектроскопия, выполненная у 24 из 101 пациентов с интракраниальными менингиомами, показала, что индекс накопления ПП IX варьировал от 9,39 до 121,93 условных единиц (у.е.), в среднем 39,92 (min 9,39, max 121,93) у.е. В зоне гиперостоза индексы накопления протопорфирина были значимо ниже, чем в солидной части опухоли - 14,6 (min 7, max 19,6) у.е. ($p=0.04$). Индекс накопления в интактном мозге не превышал 2 у.е (Таблица 44).

Таблица 44 - Сравнение количественных показателей накопления протопорфиринов в солидной части и в зоне гиперостоза при интракраниальных менингиомах.

Зона измерения	Среднее значение	Минимум	Максимум	P <0.05
Солидная часть опухоли	39,92	9,39	121,93	
Гиперостоз	14,6	7	19,6	

Таким образом, по данным спектроскопии, менингиомы являются наиболее ярко флуоресцирующими опухолями головного мозга. Выявлена достоверная корреляционная зависимость между интенсивностью флуоресценции, оцененной через операционный микроскоп, и показателями количественного накопления ПП IX, полученными с помощью спектроскопии (корреляция по Спирмену, $r=0,75$; $p=0,0052$) - Рисунок 97.

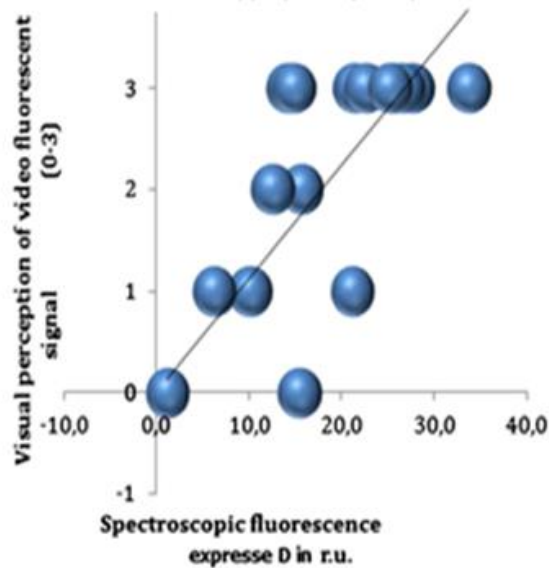


Рисунок 97 - Связь между спектроскопией и флуоресценцией в окулярах микроскопа во флуоресцентном режиме: отмечается значимая связь между показателями видимой флуоресценции в окулярах микроскопа, оцениваемой хирургом и результатов количественной спектроскопии ($p < 0.05$).

В 5 случаях при отсутствии видимой флуоресценции в ходе резекции конвексимальной менингиомы, спектроскопия выявила накопление протопорфирина, при этом в 4 случаях в ходе операции отмечалось выраженное кровотечение. Вероятно, кровь блокировала эффект свечения опухоли в микроскоп (Таблица 45).

Таблица 45 - Случаи с отсутствием видимой флуоресценции и повышены и показателями спектроскопии в хирургии менингиом.

Пол, возраст	Локализация матрикса	Гистология	Кровотечение во время операции	Видимая флуоресценция	Спектроскопия
М., 42	фалькс	Grade I	слабое	нет	6
Ж., 45	намет	Grade I	выраженное	нет	5
Ж., 62	конвекс	Grade I	выраженное	нет	10
М., 60	фалькс	Grade I	выраженное	нет	4
Ж., 27	фалькс	Grade II	выраженное	нет	6

В 1 случае видимая флуоресценция отсутствовала при нормальных значениях

спектроскопии. Ниже приведены диаграммы накопления ППХ у 12 пациентов с интракраниальными менингиомами (фоновый уровень, а также, минимальные и максимальные значения в опухоли) - (Рисунок 98).

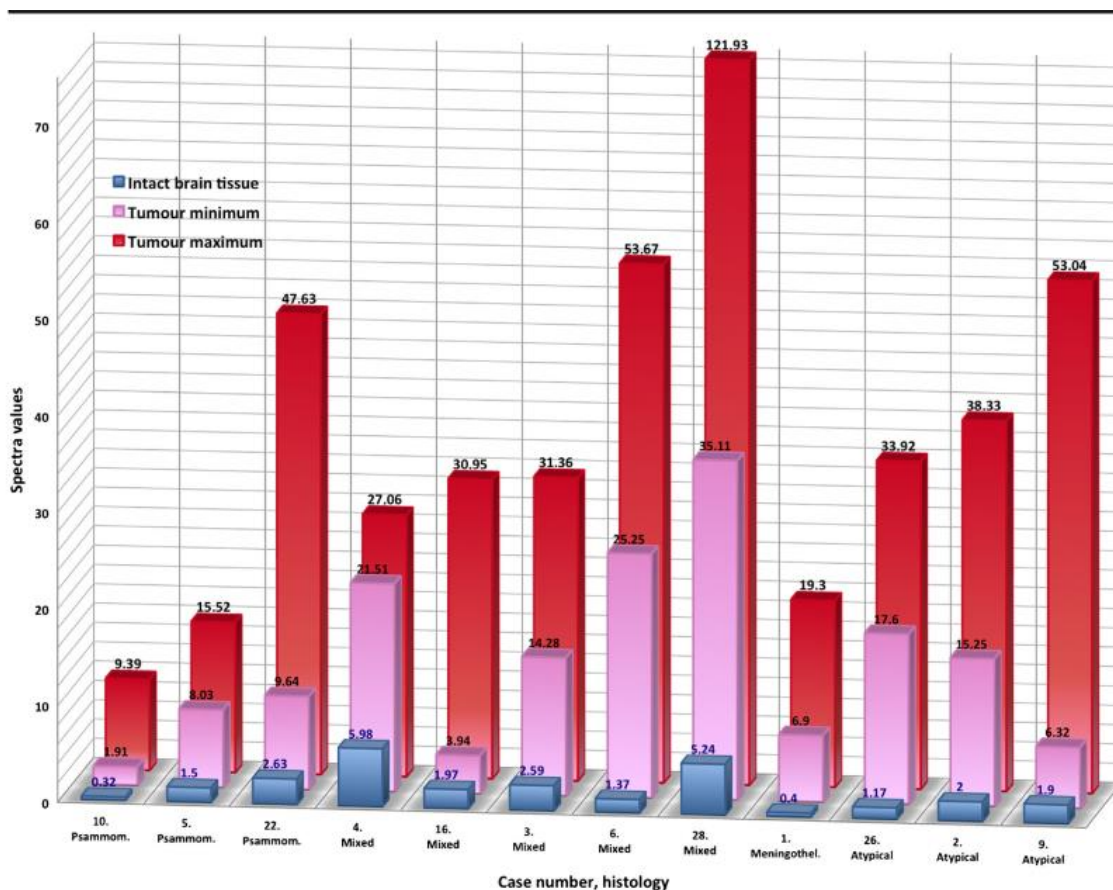


Рисунок 98 - Вариабельность показателей накопления протопорфирина при спектроскопии интракраниальных менингиом: синие столбцы показывают фоновый уровень накопления протопорфирина, розовые столбцы – минимальные значения в опухоли, красные столбцы – максимальные значения в опухоли. Отмечается выраженная вариабельность аккумуляции протопорфиринов в интракраниальных менингиомах (на графике представлено 12 опухолей – 3 парасагиттальных, 2 тенториальных, 3 фалькс-менингиомы и 4 конвекситальных).

Как видно из данных диаграмм, отмечалась значительная вариабельность накопления протопорфирина в менингиомах, а показатели флуоресценции, оцениваемые визуально хирургом через окуляры микроскопа значимо коррелировала с показателями спектральных характеристик. Максимальный

индекс накопления протопорфирина составил 121 у.е., что позволяет считать менингиомы наиболее ярко флуоресцирующими опухолями головного мозга. Данный феномен, очевидно, связан с плотноклеточностью данных опухолей, что является причиной высокой наработки протопорфиринов.

Ниже приводится спектрограмма, полученная при измерении концентрации протопорфиринов из различных участков опухоли (солидная часть и пораженная кость в зоне гиперостоза). Флуоресценция солидной части опухоли значительно превышает показатели от костной ткани на фоне отсутствия накопления в интактном мозге (Рисунок 99).

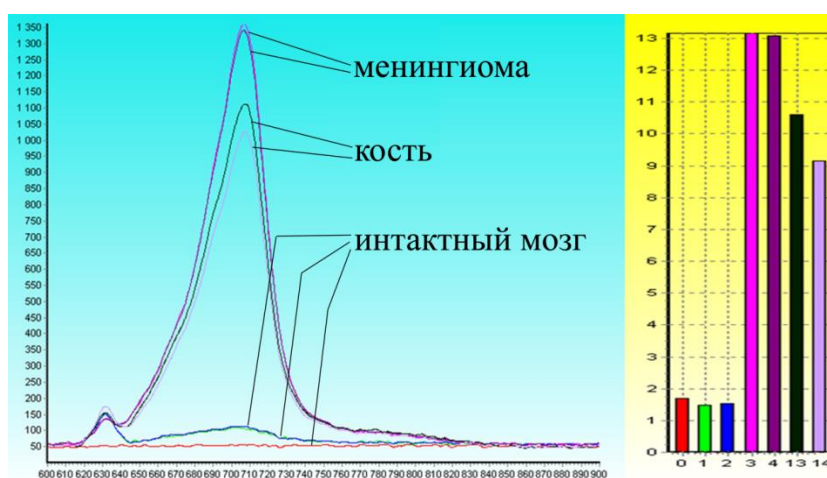


Рисунок 99 - Спектры от различных тканей, измеренные в ходе операции. Справа – пики флуоресценции (0, 1, 2 – интактный мозг; 3, 4 – менингиома; 13, 14 – гиперостоз).

Таким образом, спектроскопия в хирургии интракраниальных менингиом - это новая технология, которая помогает хирургу провести детекцию низких, но диагностически значимых уровней накопления протопорфирина, что затруднительно или невозможно при субъективной оценке флуоресценции через окуляры микроскопа. Это повышает уверенность хирурга в минимизации риска остаточной опухоли. В конечном счете, лазерная спектроскопия - это дополнительный многообещающий инструмент для уменьшения риска рецидива заболевания [404]. При этом количественное накопление протопорфиринов (спектроскопия) значимо коррелирует с интенсивностью видимой флуоресценции,

оцениваемой хирургом через микроскоп. Интенсивность количественного накопления протопорфиринов в интракраниальных менингиомах может значительно варьировать в широких пределах (от 9 до 120 у.е.).

В 22 случаях для оценки флуоресценции солидной части метастатических опухолей использовался метод лазерной спектроскопии. В 9 случаях из 22 была отмечена яркая видимая флуоресценция, в 4 случаях – умеренная, в 3 случаях – слабая, в 6 случаях флуоресценция отсутствовала. Выявлена достоверная корреляционная связь между качественными оценками флуоресценции через микроскоп и показателями количественного накопления ПП IX (у.е.), полученными с помощью лазерной спектроскопии ($r=0,82$; $p<0,001$).

При наблюдении яркого свечения средний индекс флуоресценции составил 35 у.е. (22-42 у.е.), умеренного – 18,5 у.е. (15-22 у.е.), слабого – 9 у.е. (8-11 у.е.). При отсутствии видимого свечения средний индекс флуоресценции составил 7,5 у.е. (6-9 у.е.) – (Таблица 46).

Таблица 46. Показатели соответствия накопления протопорфиринов при исследовании флуоресценции интракраниальных метастазов (солидная часть) через окуляры микроскопа и методом лазерной спектроскопии.

Видимая флуоресценция	Число наблюдений	Данные спектроскопии (солидная часть)
Отсутствует	6 (27,2%)	7,5 у.е. (6-9 у.е.)
Слабая (бледно-розовая)	3 (13,6%)	9 у.е. (8-11 у.е.)
Умеренная (розовая)	4 (18,1%)	18,5 у.е. (15-22 у.е.)
Ярко-красная	9 (40,9%)	35 у.е. (22-42 у.е.)
ИТОГО: 22 (100%)		

При исследовании спектроскопии в ложе удаленных метастазов в указанной серии флуоресценция выявлена у 18 из 22 пациентов (81,8%), средний уровень свечения составил 9,3 у.е. (7-12,5). Несмотря на наличие статистической

корреляции между качественными оценками флуоресценции через микроскоп и показателями количественного накопления ПП IX (у.е.), полученными с помощью спектроскопии, следует отметить, что при регистрации отсутствия видимой глазом флуоресценции, индекс флуоресценции при количественной оценке составлял 7,5 у.е. (6-9 у.е.) в 6 наблюдениях. Таким образом, с учетом 5 нефлуоресцирующих в микроскопе менингиом общее количество наблюдений, при которых лазерная спектроскопия выявила накопление протопорфиринов, составило 11/46 (23,9%) случаев проведенной спектроскопии.

Клиническое наблюдение 35

Ж., 51 года. Поступила с жалобами на общую слабость, отсутствие обоняния. Из истории известно, что 10 лет назад была прооперирована по поводу рака прямой кишки, проводилась адъювантная химиотерапия. При неврологическом и нейроофтальмологическом осмотре значимых нарушений не выявлено. По данным МРТ: обнаружен крупный очаг в правой лобной доле со значительным перифокальным отеком. При дальнейшем исследовании признаков рецидива основного заболевания обнаружено не было. Проведена операция – удаление метастаза правой лобной доли с флуоресцентной навигацией. По результатам биопсии: метастаз аденокарциномы. Опухоль солидной макроструктуры, в режиме VL-400 не флуоресцирует, однако при спектроскопии выявлены повышенные пики накопления протопорфирина (до 7 у.е.). Опухоль удалена полностью кускованием. В послеоперационном периоде в неврологическом статусе без изменений. На следующем этапе лечения проведено стереотаксическое облучение ложа удаленной опухоли с помощью линейного ускорителя «Новалис» в режиме гипофракционирования с краевым захватом 2 мм, подведено 3 фракции по 7,5 Гр. Пациентка регулярно проходит МРТ контроль, состоит на учете у онколога. Безрецидивный период составляет 11 месяцев (Рисунок 100).

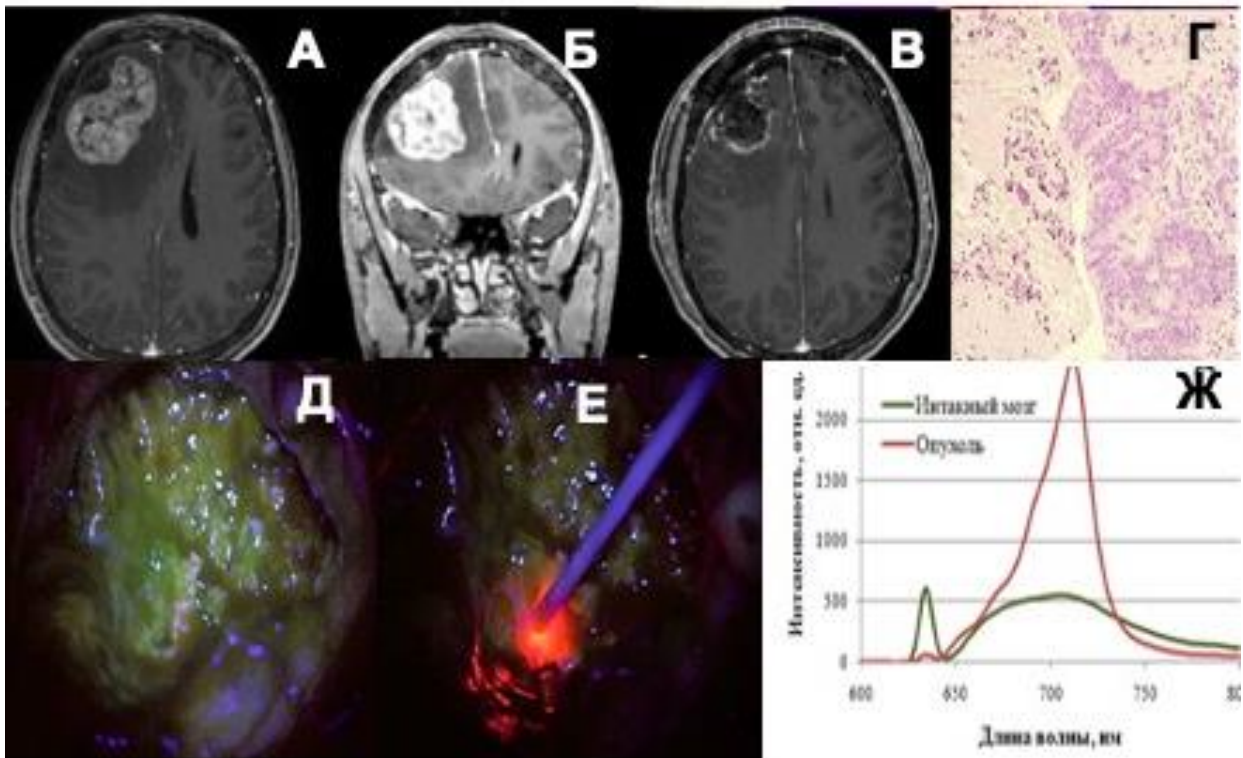


Рисунок 100. Ж., 51 год, клиническое наблюдение 35. Удаление крупного метастаза в правой лобной доле у пациентки с раком прямой кишки. А, Б, – предоперационная МРТ с контрастированием в режиме Т1, аксиальный (А), коронарный (Б) срезы, В - послеоперационная МРТ в Т1 режиме с контрастированием, аксиальный срез, Г - гистологический препарат - метастаз аденокарциномы. Д – вид операционной раны во флуоресцентном режиме, свечение опухоли отсутствует, Е – спектроскопические исследование зондом. Ж – спектрограмма с кривой накопления протопорфирина.

В хирургии интракраниальных метастазов показатели флуоресценции, оцениваемые визуально хирургом с помощью операционного микроскопа значимо связаны с количественными показателями аккумуляции протопорфирина, оцененного с помощью лазерной спектроскопии. Эти данные совпадают с аналогичными измерениями, полученными в хирургии интракраниальных менингиом. Применение спектроскопии у части пациентов с отсутствием видимой флуоресценции позволяет детектировать накопление протопорфирина IX в опухоли в малых концентрациях, невидимые в окуляры микроскопа. Показатели

накопления протопорфиринов в интракраниальных менингиомах были значимо выше, чем в метастазах (9,39 у.е. - 121,93 у.е., в среднем 39,92 у.е. при менингиомах против 6 у.е. - 42 у.е. , в среднем 22 у.е. при метастазах ($p < 0.05$).

11.2 Модификация нейрохирургического инструментария для интраоперационной спектроскопии.

Совместно с Институтом общей физики им. А.М. Прохорова РАН в данное время выполняется работа по созданию новых нейрохирургических инструментов, интегрированных со спектроскопическими волокнами, в частности, аспиратора, канюли для СТБ (патент на промышленный образец № 115776 Лощенов В.Б., Савельева Т.А., Потапов А.А., Горяйнов С.А. «Наконечник нейрохирургического аспиратора с встроенными каналами для спектрального, видео и электрофизиологического контроля с функцией шпателя» и патент на полезную модель № 183278 Лощенов В.Б., Потапов А.А., Горяйнов С.А. «Устройства для нейрохирургической аспирации со спектроскопическим и электрофизиологическим контролем»). Ниже показана видеосистема для одновременной видео и спектроскопической регистрации сигналов. Работы по изготовлению канавок на поверхности аспиратора методом лазерной абляции проводились твердотельным волоконным лазером, с длиной волны 1,6 мкм и мощностью излучения 20 Вт (Рисунки 101-102).

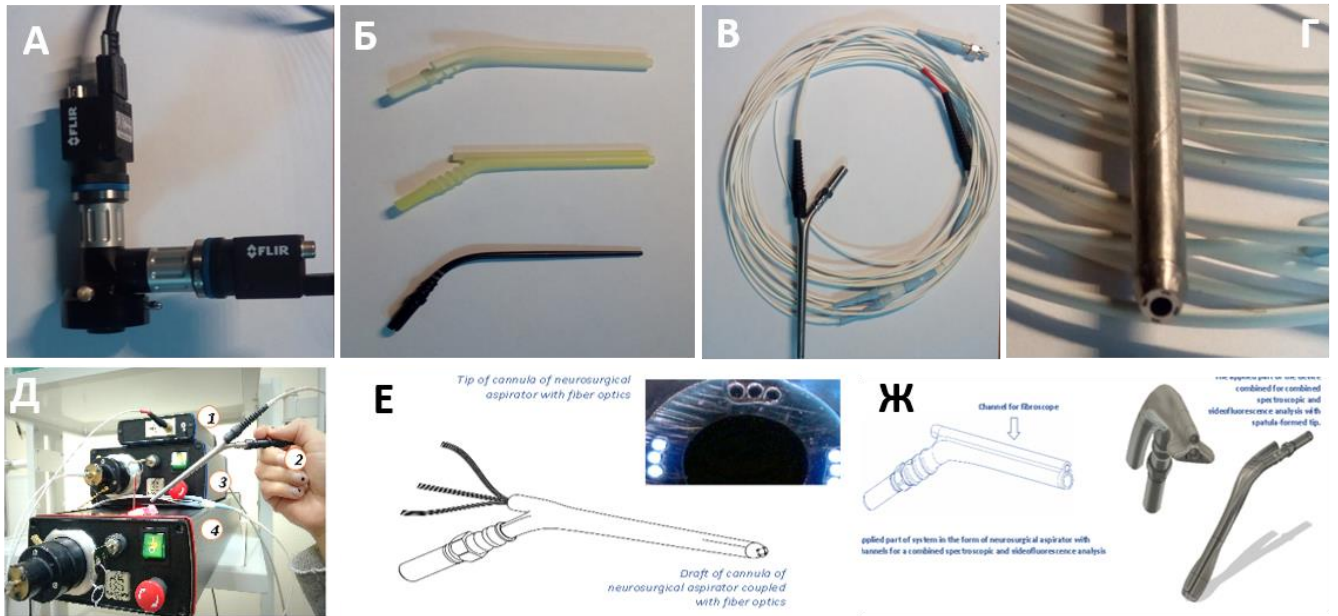


Рисунок 101 - Результаты сотрудничества НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко и Института общей физики им. А.М. Прохорова в создании и модификации нейрохирургического инструментария для оптической и спектроскопической диагностики: А – 2 видеокамеры, смонтированные для видеосистемы с целью детекции флуоресцентного эффекта, Б – хирургические аспираторы с интегрированным каналом для спектрального волокна, В – хирургический аспиратор и спектральное волокно, соединенные вместе в 1 систему, Г – торец хирургического аспиратора, видны спектральные волокна вокруг основного аспирационного канала, Д – оборудование для спектроскопии, Е – чертеж хирургического аспиратора с встроенными спектральными волокнами, Ж – хирургический аспиратор с дополнительным каналом меньшего диаметра для спектральных измерений.

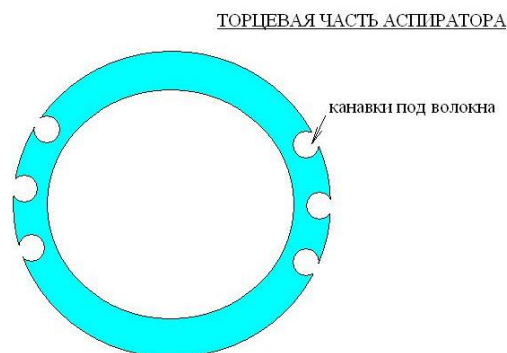


Рисунок 102 - Общий вид аспиратора, соединенного со спектроскопическими волокнами; снизу: схематическое изображение торцевой поверхности аспиратора с канавками под волокна.

Всего выполнено 5 микрохирургических резекций супратенториальных глиом с использованием модифицированного аспиратора с встроенными спектроскопическими волокнами (Таблица 47).

Таблица 47 - Данные о пациентах, оперированных с использованием аспиратора со встроенными спектроскопическим волокнами.

N	Пол	Возраст	Гистология	Флуоресценция	Спектр	Примечания
1	М	35	Диффузная астроцитома	0	4	Опухоль плотная, плохо аспирируется
2	М	54	Анапластическая астроцитома	1	6	Слабо светящаяся глиома
3	Ж	43	Глиобластома	2	12	Умеренно светящаяся глиом
4	М	28	Глиобластома	3	16.5	Ярко светящаяся глиома
5	Ж	29	Глиобластома	3	18	Ярко светящаяся глиома

Клиническое наблюдение 36

М., 37 лет, использование аспиратора с строенными спектроскопическими волокнами для интраоперационной детекции флуоресценции у пациента с анапластической астроцитомой левой височной доли. Во время операции выявляется яркая флуоресценция в опухоли, видимая через окуляры микроскопа и параллельное измерение спектрограммы накопления протопорфиринов в операционной ране (Рисунок 103).

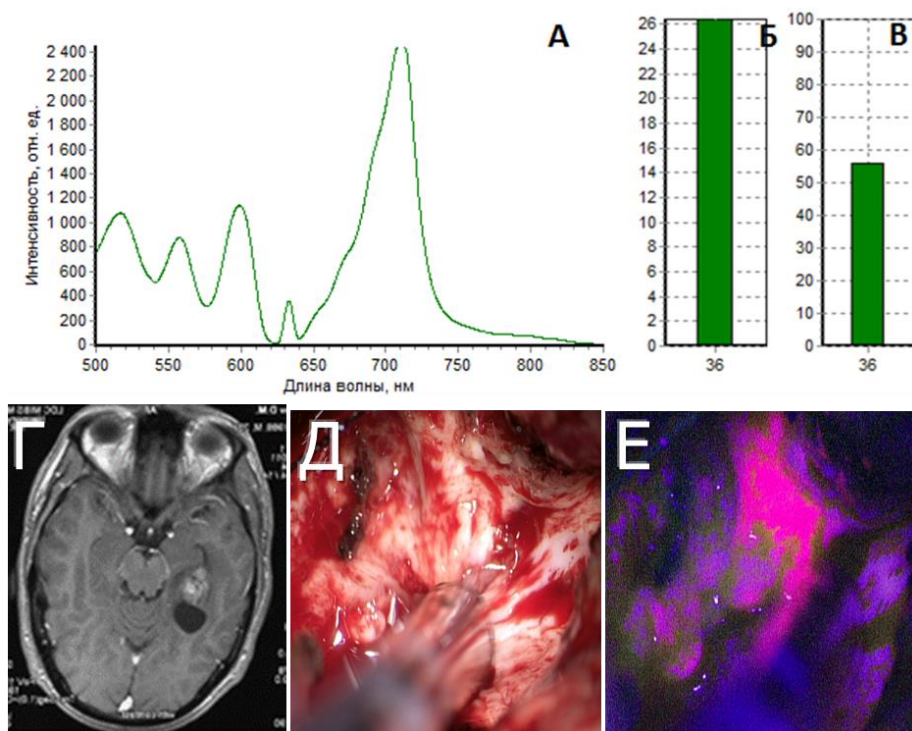


Рисунок 103 - М., 36 лет, клиническое наблюдение 36. Интраоперационная спектрография, зарегистрированная с конца нейрохирургического аспиратора со встроенными спектральными волокнами, а также соответствующие ему значения индекса флуоресценции (Б). Индекс флуоресценции 18.

Применение аспиратора со встроенными волокнами позволяет одновременно регистрировать спектры накопления протопорфиринов. Из недостатков следует отметить, что подобный аспиратор изготавливается заранее, что требует наличия специального оборудования для вытачивания каналов для волокон спектрографа. Кроме этого, при данной технике нет возможности для применения аспираторов различного диаметра.

Таким образом, в результате данной работы был создан и запатентован оригинальный аспиратор с встроенными спектроскопическими волокнами. При его использовании возможно одновременное удаление (аспирация) опухоли с параллельной спектроскопией в образце (все исследования выполнены через маркер протопорфирина). В 2 случаях со слабо/нефлуоресцирующими глиомами в ходе ее удаления зафиксированы спектры протопорфирина спектрометром параллельно с аспирацией опухоли в отсос.

11.3 Видеосистема для микрохирургических и эндоскопических нейрохирургических вмешательств

При отсутствии флуоресцентного модуля в микроскопе возможно применение внешних систем для оценки флуоресцентного эффекта (экзоскопов). Нами была апробирована система для внешней оценки флуоресцентного эффекта у 4 пациентов (2- с глиобластомами головного мозга, 1 – с анапластической олигодендроглиомой и 1 с анапластической астроцитомой) - (Рисунки 108-109).

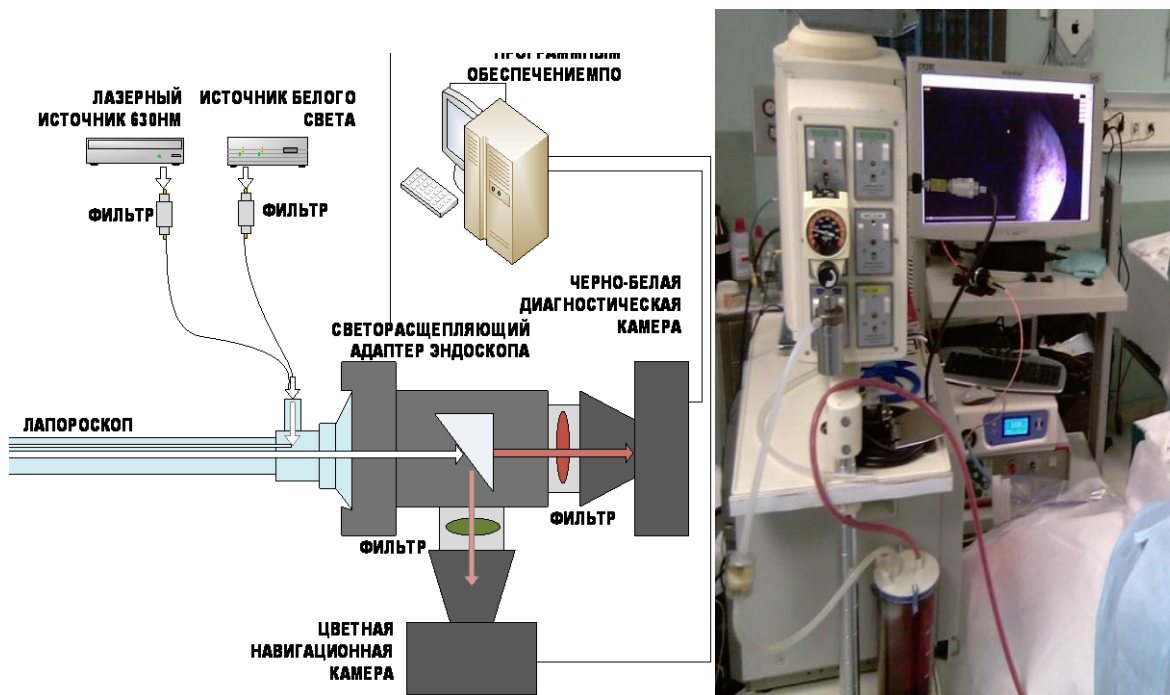


Рисунок 104 - Схема двухканальной видеосистемы для оптической флуоресцентной диагностики в нейрохирургии

Двухканальная видеосистема флуоресцентного мониторинга, приведенный на рис состоит из следующих компонентов:

- Универсальная насадка, оборудованная 2-мя камерами,
- Светодиодный спектрально-модифицированный эндоскопический источник бело света,
- Волоконное У-образное устройство доставки света,
- Устройство лазерное волоконное 635нм, 1500мВт ЛФТ-630-БИОСПЕК,
- Держатель фильтров волоконный с узкополосным лазерным фильтром
- Высококонтрастный стандартный монитор и персональный компьютер

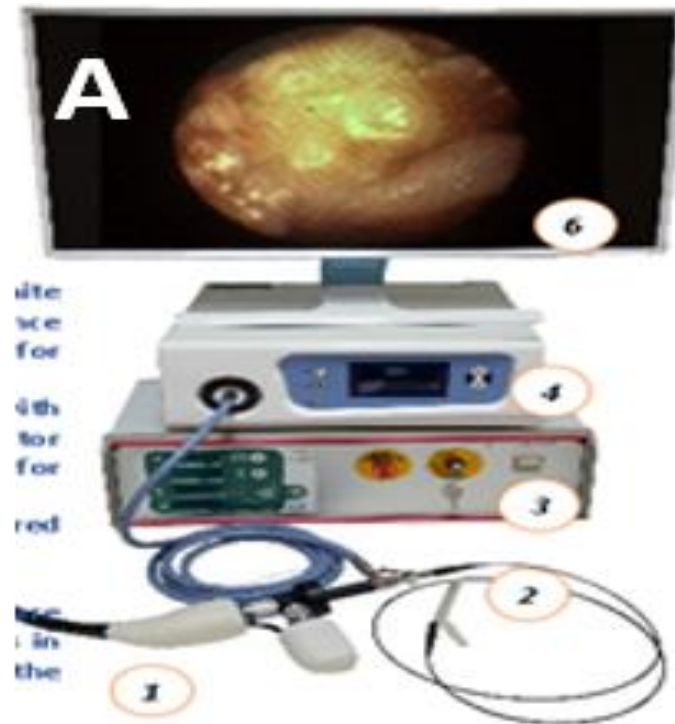


Рисунок 105 - Видеосистема для анализа флуоресцентного эффекта конструкции Института общей физики им. А.М. Прохорова: общий вид системы.

В качестве источника белого света используется стандартный высокоинтенсивный светодиодный источник освещения, в оптическую схему которого установлен светофильтр, пропускающий все длины волн, вплоть до 625 нм и оптической плотностью не менее 5-и. Этот фильтр нужен для предотвращения наложения излучения от источника белого света на флуоресцентное изображение. Обе камеры соединены управляющим кабелем, позволяющим камерам работать синхронно без задействования процессора персонального компьютера. В этом случае монохромная камера работает в режиме строба, всякий раз, при начале экспозиции посылая управляющий сигнал в цветную камеру, которая, в свою очередь, работает в режиме триггера и начинает интегрировать по сигналу, поступающему с черно-белой камеры. Эксперименты показали возможность такой работы при скорости 15 кадров в секунду с достижением чувствительности к концентрациям ПП-9 0.5 мг/кг. Работа в полностью комфортном для глаза телевизионном режиме 24 кадра в секунду сопровождается незначительным падением чувствительности.

Изображение с обеих камер поступает в компьютер в цифровом виде, где с помощью специально разработанного программного обеспечения обрабатывается и выводится на экран пользователя. С точки зрения эргономики, камеры подбирались так, чтобы их масса и габариты не препятствовали комфортному проведению исследования, т.о. габариты камер, без учета крепления объектива составляет 30x30x30мм и для монохромной и для цветной камер.

Программное обеспечение (ПО), разработанное для регистрации, вывода на экран и сохранения изображений, было выполнено на языке Microsoft Visual C# 2010 для операционной системы Microsoft Windows 7. ПО состоит из модуля захвата изображения с обеих камер, модуля совмещения изображений, модуля наложения изображений, модуля вывода изображений на экран и модуля сохранения изображений.

В режиме наложения ПО включает синхронизацию камер и выводит в режиме реального времени цветное изображение, по верх которого бирюзовым цветом выводится диагностическое флуоресцентное изображение. Таким образом, нейрохирург видит привычное изображение, но в случае обнаружения флуоресцирующих участков, программа накладывает на эти участки бирюзовый компонент, пропорциональный яркости флуоресценции.

Здесь наиболее важно отметить, что в режиме совмещения не флуоресцирующие объекты выглядят так же, как и на обычном цветном изображении, что, несомненно, способно упрощает нейрохирургу процедуру проведения диагностики и, тем самым, в свою очередь, косвенно повысить качество проводимой диагностики. Кроме того важно, что оттенок бирюзового цвета не меняется в зависимости от расстояния между микроскопом и объектом, на чем была построена система количественной оценки концентрации препарата в ткани. На Рисунке 106 представлены изображения пробирок с различной концентрацией протопорфиринов, полученные при использовании флуоресцентной видеосистемы.

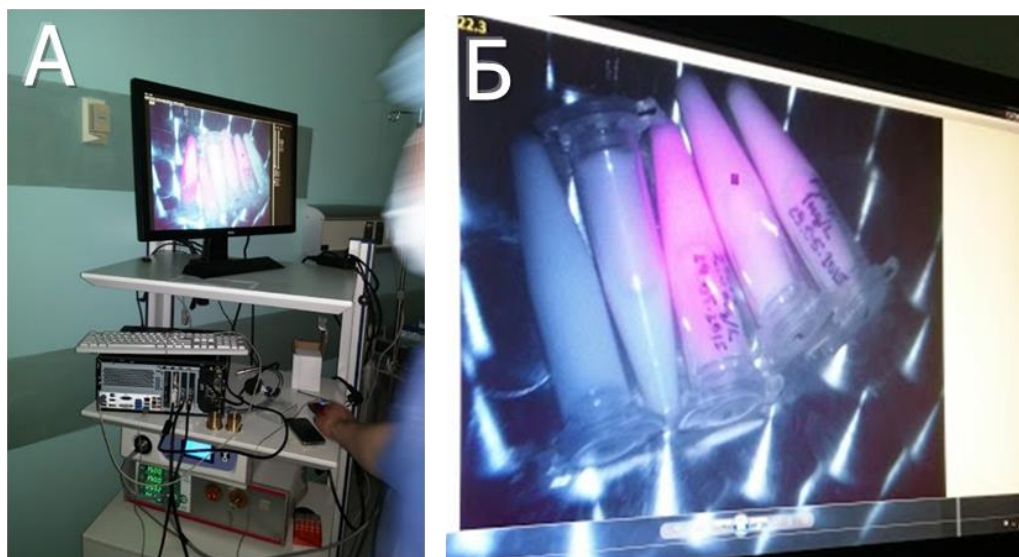


Рисунок 106 - Флуоресцентный модуль, разработанный сотрудниками лаборатории лазерной спектроскопии Института общей физики им. Прохорова РАН: А – общий вид стойки с оборудованием, Б – флуоресценция экспериментальных образцов протопорфиринов в разных концентрациях.

11.4 Перспективные технологии для визуализации нефлуоресцирующих опухолей головного мозга (рамановская спектроскопия)

Спектроскопия комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия) позволяет проводить анализ молекулярного состава тканей с сохранением всех достоинств метода флуоресцентной спектроскопии, не требует при этом введения экзогенного красителя и может быть вариантом выбора при построении системы интраоперационной навигации или оптической биопсии. Для дальнейшего совершенствования измерений при нефлуоресцирующих опухолях автором совместно с Институтом общей физики им. Прохорова продолжено изучение метода рамановской спектроскопии. Исследовано рамановской спектроскопии 20 пациентов с применением рамановской спектроскопии, из них нефлуоресцирующих опухолей (LGG) – 7 наблюдений (5 диффузных астроцитом и 2 олигоденроглиомы) и 13 флуоресцирующих (как группа контроля) - HGG -10 наблюдений (8 глиобластом и 2 анапластические астроцитомы) и 3 пациента с интракраниальными метастазами (2 – рака почки и 1 – рака молочной железы).

После измерения образцов опухолей каждый биоптат просматривался патоморфологом. В результате измерений получены кривые спектрограмм для каждой из опухоли (Рисунок 107).

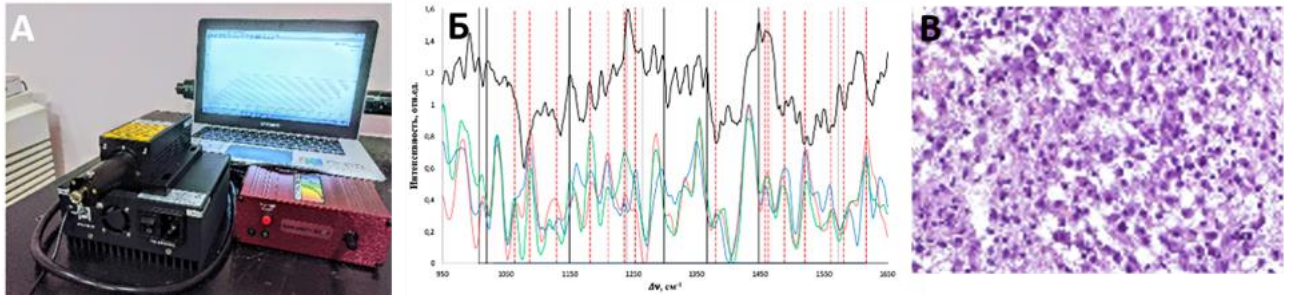


Рисунок 107 - Рамановская спектроскопия в нейроонкологии: А – общий вид оборудования (Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН), Б – кривые, полученные в результате рамановской спектроскопии при глиобластоме *in vitro*, В – морфологические препарат (глиобластома).

В настоящей работе представлены первые результаты использования метода главных компонент для классификации спектров комбинационного рассеяния глиобластомы человека с промежуточной обработкой спектров для минимизации возможных ошибок от флуоресценции как эндогенных флуорофоров, так и фотосенсибилизаторов, используемых при флуоресцентной навигации. В результате были обнаружены различия в пространстве главных компонент, соответствующие образцам тканей с микрокистозными компонентами, обширными участками некрозов, фокусами свежих кровоизлияний. Данный подход может послужить основой для построения системы автоматической интраоперационной классификации тканей на основе анализа спектров комбинационного рассеяния. В настоящее время продолжается накопление данных спектроскопии при рамановском методе.

Резюме главы 11

Направления будущего развития спектроскопических технологий в нейроонкологии

С целью дальнейшего развития метаболической навигации необходимо продолжение исследований нефлуоресцирующих опухолей ЦНС (особенно глиом низкой степени злокачественности) на основе комбинированной спектроскопии, рамановской спектроскопии, масс-спектроскопии, терагерцовой спектроскопии и других методик. Для совершенствования техники измерений накапливающих протопорфирины опухолей полезны такие методики как спектроскопия через дополнительные каналы аспиратора, использование модифицированных видеосистем для визуализации флуоресцентного эффекта (Таблица 48).

Таблица 48 - Перспективные методы интраоперационной визуализации для нефлуоресцирующих глиом (в целом и для несветящихся компонентов флуоресцирующих глиом).

Автор, год	Метод	Принцип
Савельева Т.А. et al., 2016 [49] Горяйнов С.А. et al., 2013 [17]	Комбинированная спектроскопия	Изучение рассеяния света тканями (опухолевые ткани являются менее оптически «плотными» и рассеивают меньше света чем интактные, исследование возможно в операционной ране.
Zhou Y et al., 2019 Hollon T, Stummer W et al., 2019 Романишкин И.Д. и соавт., 2020 [194]	Рамановская спектроскопия	вид спектроскопии, в основе которой лежит способность исследуемых систем (молекул) к неупругому (рамановскому, или комбинационному) рассеянию монохроматического света. Исследование возможно в операционной ране.
Meza D, Wang D et al., 2015 [277]	Конфокальная микроскопия	Интраоперационная визуализация отдельных клеток. Исследование возможно в операционной ране.
Николаев Е.Н. et al., 2016 [6]	Масс-спектрометрия	Изучение биохимического спектра биоптата, исследование проводится дистанционно.
Яшин К.С., 2019 [57]	Оптическая когерентная томография	Анализ обратно рассеянного излучения ближнего инфракрасного диапазона, возможно дистанционной и в операционной ране.
Leppert J. и соавт., 2006 [243]	Аутофлуоресценция	Анализ аутофлуоресценции тканей без дополнительных флуоресцирующих агентов.
Зайцев К.И. и соавт., 2020 [38].	Терагерцовая спектроскопия	Анализ глубины проникновения терагерцового излучения в интактных и опухолевых тканях

Продолжается поиск новых флуоресцирующих веществ для нейрохирургических операций: в частности, демеклоциклина, акрилового оранжевого, крезил фиолетового, различных наночастиц, липосом и конъюгированных антител (так называемых таргетных флуорофоров) к сосудистому эндотелиальному фактору роста, эпидермальному фактору роста, белкам коннексинам и [81; 383].

Применение рамановской спектроскопии в нейроонкологии было начато с работ Т. Hollon и D. Orrienger [194] в настоящее время постепенно внедряется в клиническую практику, в основном за рубежом. В настоящее время продолжается совместное исследование с Институтом общей физики им. А.М. Прохорова РАН, посвященное применению рамановской спектроскопии в нейроонкологии, что особенно важно для нефлуоресцирующих опухолей головного мозга, прежде всего для интраоперационного определения границ глиом низкой степени злокачественности.

Исследования показывают, что клетки глиомы для этой цели активно используют жирные кислоты. Небольшая часть этих жирных кислот поступает из крови, однако большая часть синтезируется самими опухолевыми клетками. Жирные кислоты участвуют в формировании липидов для строительства клеточных мембран. Соответственно, в активно растущей опухолевой ткани липидный профиль отличается от профиля здоровой ткани.

Масс спектрометрия с использованием прямой атмосферной ионизации — быстрый, стабильный и воспроизводимый метод, допускающий автоматическую обработку данных. является одним из важнейших аналитических методов исследования веществ во всех агрегатных состояниях. Ее востребованность в современной науке (в первую очередь, в науках о жизни) обусловлена высокой информативностью: возможностью идентификации анализируемых молекул и возможностью определения первичной, а зачастую - в случае белковых молекул - вторичной и третичной структур. Благодаря этим свойствам метод можно адаптировать к клиническим условиям [6]. На основании анализа 57 образцов глиальных опухолей Grade II-IV, полученных в ходе оперативных вмешательств в

НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко совместно с “Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)” (МФТИ) получены данные масс-спектрометрических исследований на основе изучения липидов в опухолях. В результате выявлены отличия в липидном профиле глиобластом и астроцитом [54].

Большой вклад в изучение оптической когерентной томографии (ОКТ), в медицине в целом и в нейрохирургии в частности, внесен коллективом авторов под руководством профессоров Е.В. Загайновой и Н.Д. Гладких (Нижний Новгород). Метод ОКТ позволяет в ходе оперативного вмешательства дифференцировать кору, белое вещество и глиальные опухоли на основании визуальных характеристик ОКТ-сигнала, при этом диагностическая точность метода с использованием визуальной оценки изображений составляет 87–88%, а с использованием количественной обработки ОКТ-данных с определением коэффициента затухания — 92% [57].

Коллектив НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко совместно с МФТИ участвовал в разработке методов терагерцовой спектроскопии для нейровизуализации глиом *ex vivo* [38]. Малая глубина проникновения ТГц излучения в ткани делает невозможным проведение ТГц неинвазивной диагностики внутренних органов и тканей, залегающих даже на небольшой глубине. Тем не менее методы ТГц спектроскопии и имиджинга могут найти свои применения в решении задач интраоперационной диагностики – исследования и дифференциации тканей непосредственно в процессе хирургического вмешательства. Показано, что ТГц диэлектрический отклик глиом головного мозга различной степени злокачественности (Grade I, II, III и IV в соответствии с классификацией Всемирной организации здравоохранения) и интактных тканей статистически различимы. В то же время ТГц отклик отечных тканей отличается от отклика интактных тканей и схож с откликом опухоли, что может послужить причиной ошибок диагностики. Тем не менее, эти результаты, по данным Зайцева К.И. и соавт., свидетельствуют о перспективах разработки новых подходов к ТГц диагностике опухолей головного мозга человека [38].

Глава 12 Фундаментальные исследования флуоресцентного эффекта в нейроонкологии в культурах клеток глиом мозга человека

12.1 Получение культур глиом мозга человека для изучения флуоресцентного эффекта в эксперименте

Всего для исследования было выбрано 6 клеточных культур глиом человека (3 флуоресцентно-положительные (Ф+) и 3 флуоресцентно-негативные (Ф-)). Данный выбор был обусловлен, во-первых, наличием высокого уровня флуоресценции после инкубации с АЛК или же полного ее отсутствия в Ф+ и Ф- клеточных культурах, соответственно; и, во-вторых, корреляцией между наличием/отсутствием интра-операционной флуоресценции и соответствующим статусом флуоресценции в полученных клеточных культурах. Шифр клеточных культур, диагноз, наличие/отсутствие интра-операционной флуоресценции и флуоресценции клеточных культур представлены в таблице 49. Также к исследованию была добавлена клеточная линия НЕК293.

Таким образом, флуоресцентные свойства культур глиом повторяли свойства тканей опухолей, из которых они были получены.

Таблица 49 - Полученные клеточные культуры глиом человека, выбранные для исследования особенностей метаболизма протопорфирина IX.

Шифр культуры	Исходная ткань	Статус интраоперационной флюоресценции	Статус флюоресценции в ответ на добавление АЛК
Kr/fN1	Диффузная астроцитома	Негативный	Негативный
Er/fN2	Олигоастроцитома	Негативный	Негативный
Er/fN3	Олигоастроцитома	Негативный	Негативный
Mir/fP1	Глиобластома	Позитивный	Позитивный
Sus/fP2	Глиобластома	Позитивный	Позитивный
Sh/fP3	Глиобластома	Позитивный	Позитивный

12.2 Анализ кинетики накопления протопорфиринов в культурах клеток глиом мозга человека

Для оценки скорости анаболизма и катаболизма флюоресцирующих протопорфиринов совместно с Институтом биологического гена РАН был использован метод спектрофлуориметрического анализа (Рисунок 108).

Отсутствие на представленном графике результатов оценки скорости накопления флюоресцирующих протопорфиринов в Ф- клеточных культурах обусловлено уровнем сигнала спектрофлуориметра на уровне контроля во всех исследованных точках при измерении флюоресценции в этих культурах. В исследованных данным методом Ф+ клеточных культурах скорость накопления флюоресцирующих протопорфиринов оказалась различной, более того, в первой точке измерения, значения флюоресценции также оказались различными: так, в линии НЕК293 и культуре Mir/fP1 значение в точке 2 часа оказались схожими, тогда как в двух других культурах (Sh/fP3 и Sus/fP2) значение было приблизительно в два раза выше.

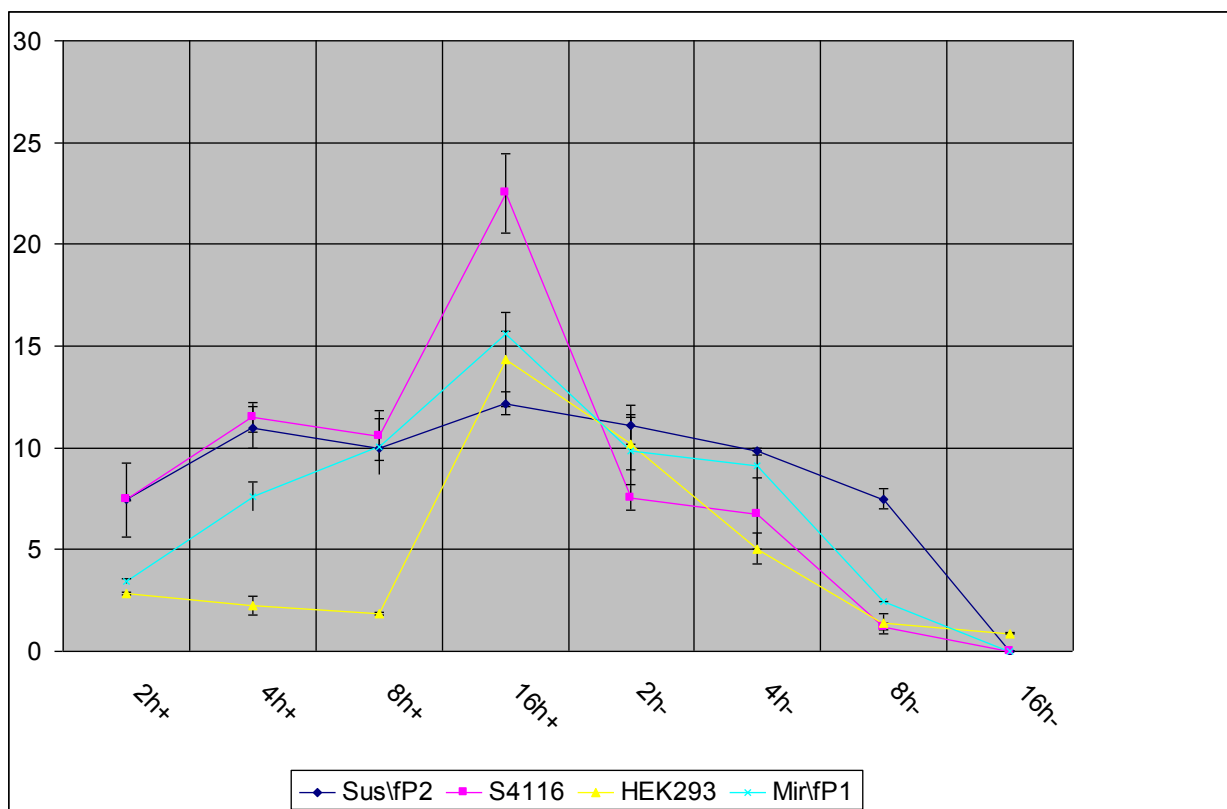


Рисунок 108 - График скорости накопления флюоресцирующих протопорфиринов в ответ на добавление 5-АЛК. 2h+, 4h+, 8h+, 16h+ - уровень флюоресценции экстрактов клеточной культуры измеренный через 2, 4, 8 и 16 часов соответственно после добавления АЛК. 2h-, 4h-, 8h-, 16h- - уровень флюоресценции экстрактов клеточной культуры измеренный через 2, 4, 8 и 16 часов соответственно после удаления 5-АЛК из культуральной среды.

Далее, в интервале 2-4 часа после добавления АЛК скорость накопления протопорфиринов была приблизительно одинакова во всех клеточных культурах, однако в линии клеток HEK293 наблюдалось снижение уровня флюоресцирующих протопорфиринов. На отрезке 4-8 часов в линии HEK293 продолжилось падение уровня флюоресценции, также как и в клеточных культурах Sh/fP3 и Sus/fP2, что, может быть связано с активизацией регуляторных процессов внутри клеток в ответ на избыток протопорфирина IX и, соответственно, снижения уровня флюоресценции вследствие внутриклеточных компенсаторных механизмов. Подобного явления, однако, не наблюдалось в клеточной культуре Mir/fP1. Далее, на участке 8-16 часов изменение флюоресценции было различным во всех исследованных культурах, лишь клеточная культура Sh/fP3 и HEK293 показали

примерно одинаковый угол наклона отрезка между точками 8 и 16 часов. Снижение уровня флюоресценции была относительно равномерным в клеточных культурах Sus/fP2 и линейных клетках HEK293, однако скорость катаболизма был выше в линии HEK293. Схожими оказались кривые катаболизма клеточных культур Mir/fP1 и Sh/fP3, лишь через два часа в клеточной культуре Sh/fP3 наблюдалось более сильное снижение флюоресценции, дальнейшие кривые по скорости катаболизма практически одинаковы. Стоит отметить, что в линейных клетках HEK293 несмотря на достаточно быструю начальную скорость катаболизма, после 8 часов она снизилась и даже через 16 часов можно было наблюдать низкий уровень флюоресценции. В целом же, анаболизм и катаболизм флюоресцирующих протопорфиринов IX оказался не линейным, подверженным внутренним механизмам регуляции в ответ на избыток протопорфиринов. Более того, все исследованные культуры различались как по скорости катаболизма, так и по скорости анаболизма. Однако после 16 часов инкубации в присутствии АЛК все исследованные нами культуры, достигали локального максимума, что может служить поводом для дальнейших исследований и последующей возможной рекомендации относительно увеличения промежутка между приемом пациентом препарата, содержащего АЛК и операционной резекцией опухоли.

12.3 Анализ гетерогенности клеточных культур по способности накапливать протопорфирин IX протопорфирин IX

С помощью флюоресцентной микроскопии клеточные культуры были проанализированы на степень однородности входящих в их состав клеток, относительно их способности к накоплению протопорфирина IX. Для этого Ф+ клеточная культура была обработана АЛК, а затем проанализирована ее флюоресценция при различном времени инкубации с АЛК (60,80, 100, 120,180, 230, 380 минут, 24 часа) с помощью серии флюоресцентно-микроскопических фотографий. Как видно из представленных результатов, клеточная культура оказалась гетерогенной по степени накопления протопорфирина IX (Рисунок 117).

При времени инкубации культуры с АЛК в течение 60 минут не было обнаружено сигнала флюоресценции ни в одной из клеток, к 80-й минуте в части клеток была обнаружена слабая флюоресценция, в то время как другая часть флюоресценцию не обнаруживала. С течением времени (100-230 минут) наблюдалась как увеличение числа флюоресцирующих клеток, так и увеличение интенсивности флюоресценции (Рисунок 13с-g). К 380 минуте практически все клетки в поле зрения обладали ярко-выраженной флюоресценцией, а спустя 22 часа инкубации с АЛК наблюдалась максимальная степень флюоресценции всех клеток, входящих в клеточную культуру. Таким образом, нами было показано, что клеточная культура не является однородной по скорости накопления протопорфирина IX, однако все клетки этой клеточной культуры обладают способностью к накоплению протопорфирина IX.

Сходным образом была проанализирована Ф- клеточная культура: несмотря на отсутствие сигнала флюоресценции при исследовании с использованием спектрофлюориметра, при более тщательном анализе с помощью конфокальной микроскопии нами были обнаружены группы флюоресцирующих клеток (Рисунок 109).

Клетки Ф- культуры располагались не равномерно, культура была представлена как зонами с одиночными клетками, так и областями монослоя, а также скоплениями клеток, образующих квазиобъемную структуру. Обнаруженные нами флюоресцирующие в протопорфириновом спектре клетки располагались лишь в области массовых скоплений, нами не было обнаружено ни одной свободно-расположенной флюоресцирующей клетки. Причем клетки с протопорфириновой флюоресценцией располагались в окружении клеток без признаков флюоресценции. По приблизительной оценке процент флюоресцирующих клеток в этой клеточной культуре не превышал 1% от общего числа клеток, что, очевидным образом, недостаточно для преодоления уровня чувствительности спектрофлюориметра.

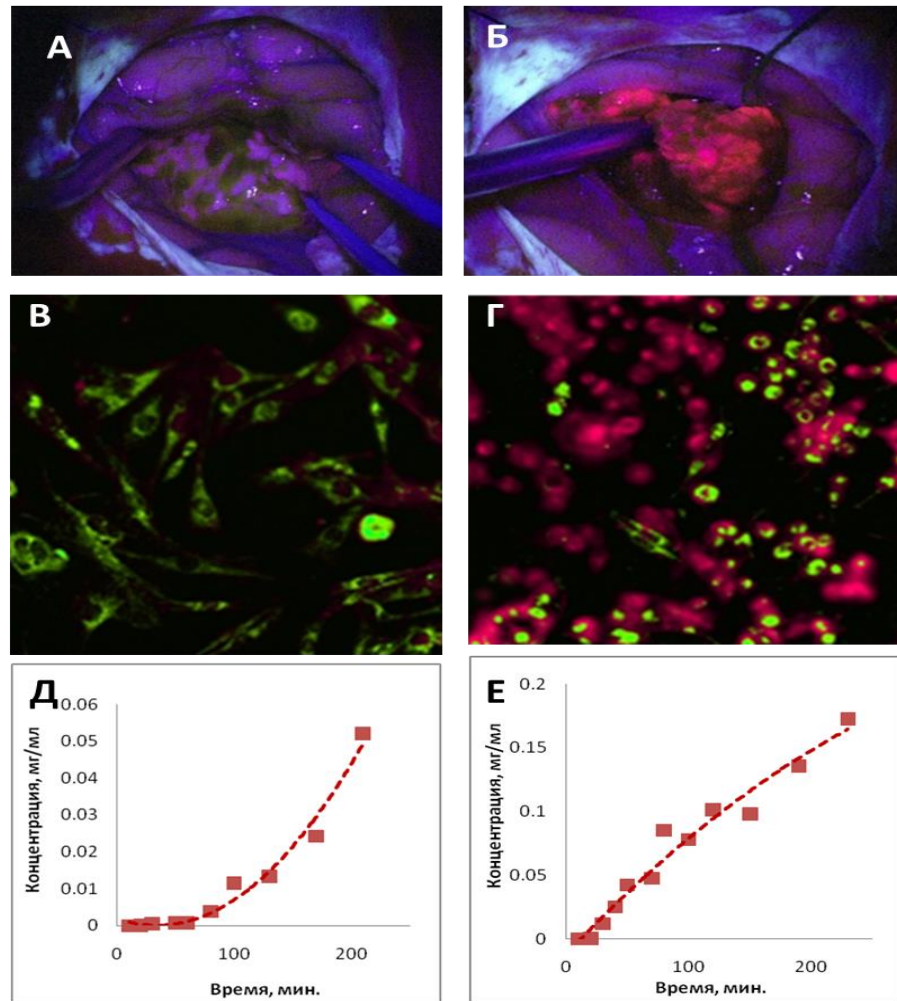


Рисунок 109 - Изучение флуоресцентных свойств первичных опухолей (глиобластом) и полученных из них клеточных культур. Выявляется 2 типа накопления и синтеза протопорфирина клетками: медленный при нефлуоресцирующей культуре (слева) и быстрый – при флуоресцирующей культуре глиобластом (справа). А: интраоперационная фотография нефлуоресцирующей глиобластомы в микроскопе, Б – интраоперационная фотография флуоресцирующей глиобластомы, отмечается яркое свечение опухоли во время резекции, В – конфокальная микроскопия нефлуоресцирующей культуры глиобластомы, Г – конфокальная микроскопия флуоресцирующей культуры глиобластомы, Д – кинетика накопления протопорфирина в нефлуоресцирующей культуре, Е – кинетика накопления протопорфирина во флуоресцирующей культуре.

Ниже представлен фотографический снимок конфокальной микроскопии Ф-клеточной культуры с несколькими флюоресцирующими клетками (Рисунки 110-111).

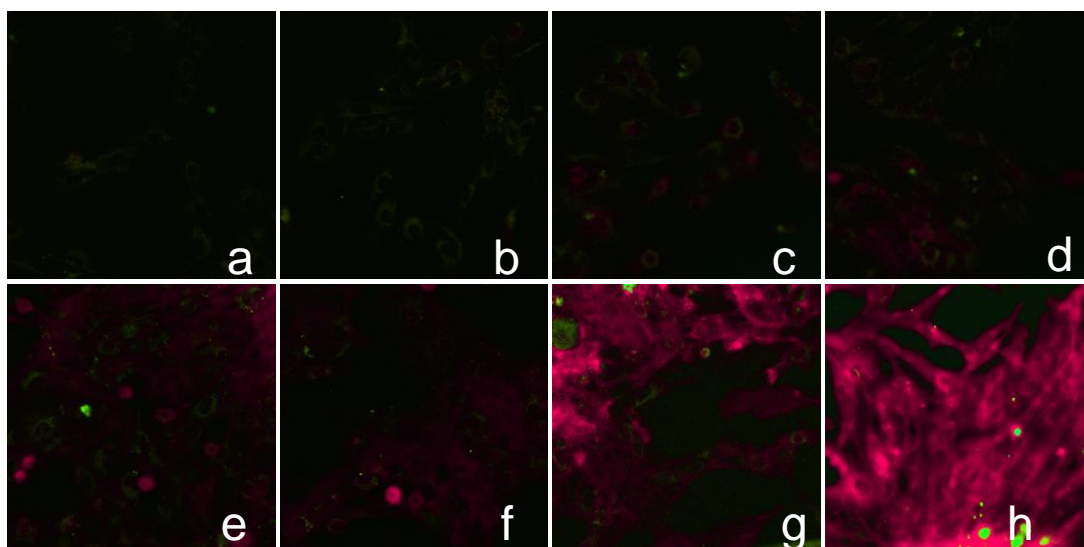


Рисунок 110. Флюоресцентная-микроскопия клеточной культуры Sh\fp3 после инкубации с 5-АЛК. А-Н — время инкубации с АЛК - 60,80, 100, 120,180, 230, 380 минут, 24 часа соответственно. Розовым – флюоресценция 5-АЛК, зеленым – автофлюоресценция. В – некоторые клетки в зоне видимости обладают слабой флюоресценцией, с течением времени (С-Н) происходит увеличение числа флюоресцирующих клеток, также растет общая интенсивность флюоресценции.

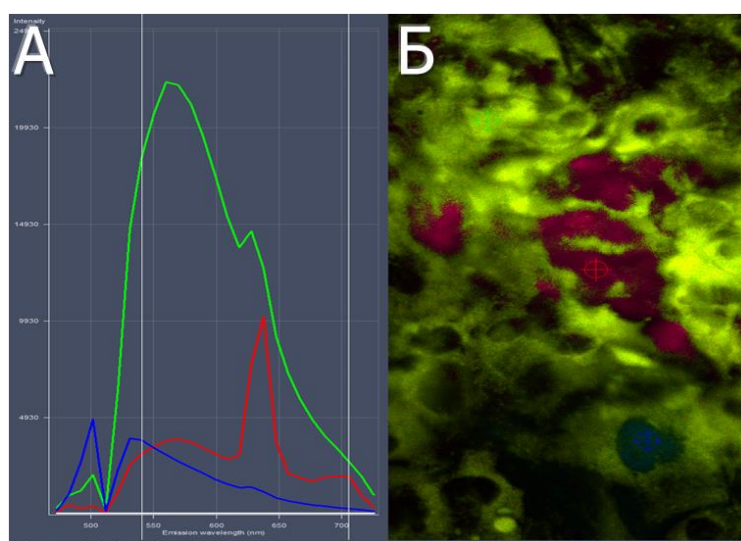


Рисунок 111 - Флюоресцентная-микроскопия клеточной культуры Kr/fN1 после инкубации с 5-АЛК (Б). Заметно наличие группы флюоресцирующих клеток (розовая флюоресценция, красный пик на спектрограмме Ф).

12.4 Количественный ПЦР анализ экспрессии генов, кодирующих ферменты биосинтеза гема

Среди разнообразия факторов, которые могут вносить свой вклад в различия глиом по способности накапливать протопорфирин IX мы решили изучить особенности ферментативного пути биосинтеза гема в этих клетках и оценить экспрессию ферментов, участвующих в этом процессе. Нами были подобраны олигонуклеотидные праймеры на все семь ферментов этого биосинтетического пути (табл. 58). На первом этапе нами был проведен количественный анализ экспрессии мРНК, кодирующих эти ферменты во флюоропозитивных и флюоронегативных культурах глиом человека. Для этого был использован метод количественного ПЦР в реальном времени с нормализацией экспрессии по гену домашнего хозяйства *HPRT*. Результаты анализа уровня экспрессии транскриптов генов, кодирующих ферменты биосинтеза гема представлены на Рисунке 112 и в Таблице 50.

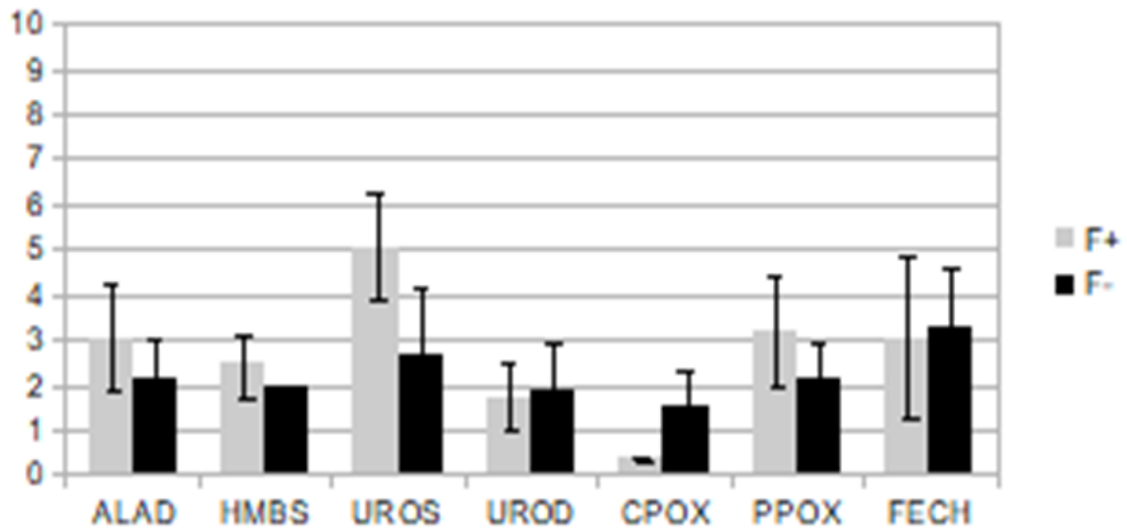


Рисунок 112 - Анализ уровня экспрессии мРНК генов, кодирующих ферменты участвующие в синтезе гема. F+-флюоропозитивные культуры; F--флюоронегативные культуры.

Таблица 50 - Основные ферменты и кодирующие их гены, участвующие в биосинтезе гема.

<i>Ген</i>	<i>Расшифровка</i>
HMBS	Порфобилиноген синтаза
URO5	Уропорфириноген синтаза
UROD	Уропорфириноген декарбоксилаза
CPOX	Копропорфириноген оксидаза
PPOX	Протопорфириноген оксидаза

Данный анализ не позволил выявить каких-либо значимых различий в уровнях мРНК ферментов, участвующих в синтезе гема в клеточных культурах с различной степенью флюоресценции. Оказалось, что степень представленности практически всех исследованных транскриптов весьма разнородно внутри одной группы. Не было обнаружено значимых различий между уровнем мРНК ферментов синтеза гема между Ф+ и Ф- клеточными культурами. Единственным ферментом уровень мРНК которого достоверно различался между двумя выбранными группами — фермент *CPOX*. Удивительным оказалось обнаружение в флюоресцентно-положительных культурах меньшего количества транскрипта этого гена, в сравнении с флюоресцентно-негативными клеточными культурами. Сравнительный уровень фермента оказался в 6 раз выше в флюоресцентно-положительных клеточных культурах, чем и ниже в флюоресцентно-отрицательных клеточных культурах.

12.5 Анализ транскриптного состава гена *CPOX* и других ферментов каскада биосинтеза гема

Полученный результат исследования уровня экспрессии мРНК ферментов показал большой разброс в значениях, при этом уровень экспрессии мРНК фермента *CPOX* оказался ниже в флюоресцентно-положительных клеточных культурах. Вместе с тем, принимая во внимание тот факт, что при количественном ПЦР исследуется, по сути, лишь уровень экспрессии фрагмента, ограниченного используемыми праймерами (т.е. данный метод ничего не говорит о разнообразии представленности транскриптов, которые получаются в результате альтернативного сплайсинга), в дальнейшем мы решили продолжить анализ однородности ПЦР

продуктов исследуемых ферментов при амплификации открытой рамки считывания транскриптов, с целью обнаружить альтернативные транскрипты этих генов.

Проведенный, таким образом, анализ большинства генов выявил продукты, которые по подвижности соответствовали ожидаемым (согласно базам данных). При ПЦР-анализе с использованием праймеров, фланкирующих открытую рамку считывания гена *CPOX* нами была обнаружена неоднородность ПЦР продуктов. При исследовании транскриптов, кодирующих ферменты биосинтеза гема нами была обнаружена неоднородность транскриптного состава гена *CPOX* (Рисунки 113-114).

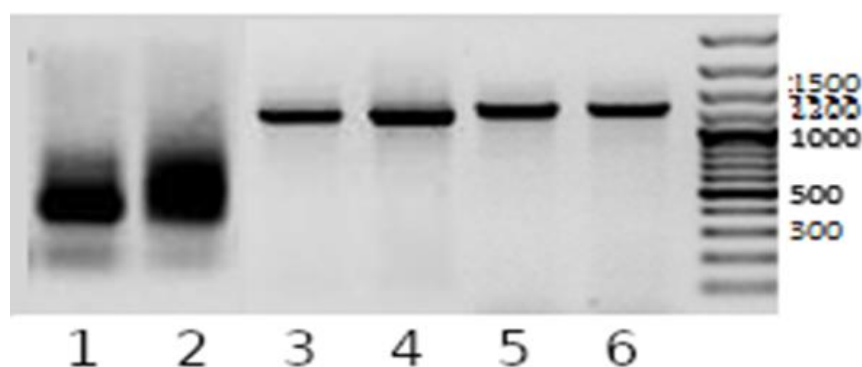


Рисунок 113 - Результаты электрофореза в 1% агарозном геле продуктов ПЦР с праймерами: 1,2 — *cpoxF1 cpoXR1*, 3,4 – *aladF1 aladR1*, 5,6 - *fechF1 fechR1*. В качестве матрицы использовали кДНК, полученные из флюоресцентно-положительной клеточной культуры (дорожки 1,3,6) и флюоресцентно-отрицательной клеточной культуры (дорожки 2,4,6).

В ходе исследования была произведена оценка сравнительного содержания других ферментов, участвующих в синтезе гема — ALAD и FECH, так как в научной литературе оба эти фермента фигурируют в качестве основных регуляторных точек синтеза гема. Однако в рамках нашего исследования нам не удалось обнаружить каких-либо корреляций между статусом флюоресценции и сравнительным количеством этих двух ферментов. Так, в культурах с различным статусом флюоресценции обнаруживалось схожее количество фермента FECH, причем как относительно низкое, так и относительно высокое (*Sh\fp3* —

флюоресцирующая культура и Ep/fN2 — не флюоресцирующая, обе показали высокое содержание FECH, тогда как Sus/fP2 — флюоресцирующая и Er/fN3 — не флюоресцирующая, обе показали низкое содержание фермента FECH). Схожая картина наблюдалась и при исследовании ALAD. Причем уровни экспрессии этих двух ферментов в некоторых культурах не коррелировало, так, содержание FECH в линии HEK293 и Kr/fN1 было относительно высоким, тогда как фермента ALAD относительно низким.

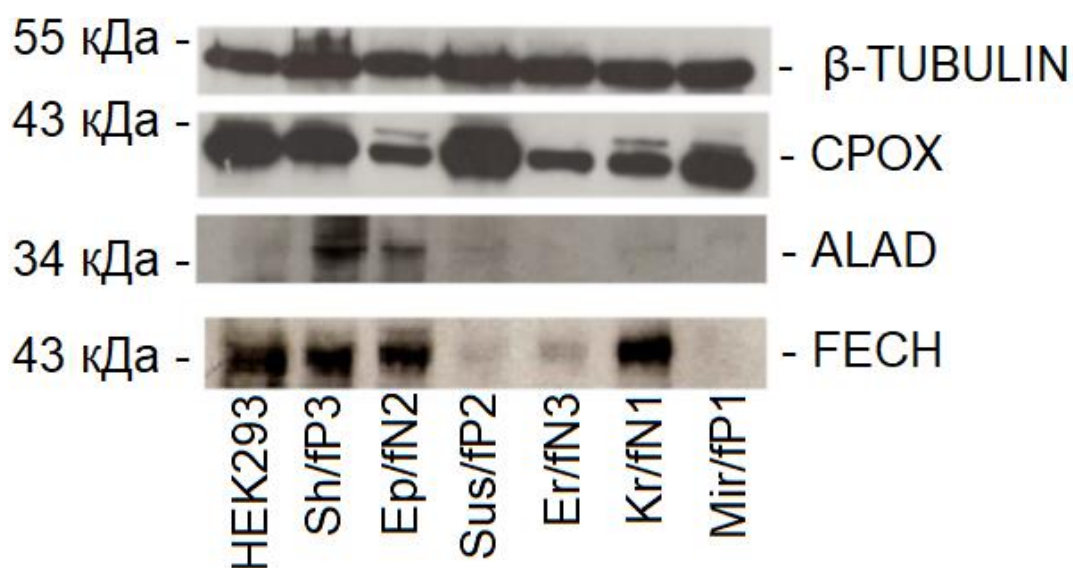


Рисунок 114 - Результаты вестерн-блот анализа лизатов клеточных культур флюоресцентно-положительных и флюоресцентно-отрицательных клеточных культур с антителами против CPOX, ALAD и FECH.

12.6 Анализ пролиферативной способности клеточных культур и ее корреляции со статусом флюоресценции

При наблюдении клеточных культур, участвующих в экспериментах, было замечено, что те культуры, которые были получены из опухолевого материала с отрицательным статусом интра-операционной флюоресценции обладали меньшим пролиферативным потенциалом. Для того, чтобы проверить это наблюдение были проанализировали клеточные культуры на пролиферативную способность с использованием метода окраски BrdU. Для этого исследования было выбрано две культуры – Mir/fP1 (Ф+) и Kr/fN1 (Ф-). Было обнаружено, что статус

флюоресценции коррелирует со степенью пролиферации (и, таким образом, с количеством СРОХ). Так, клеточная культура, в которой не было обнаружено наличия протопорфириновой флюоресценции, обладала значительно меньшим пролиферативным потенциалом в сравнении с флюоресцентно-положительной клеточной культуре (4% BrdU положительных клеток в флюоресцентно-негативной клеточной культуре против 53% - в флюоресцентно-положительной клеточных культуре при инкубации с BrdU в течение 12 часов (Рисунок 115).

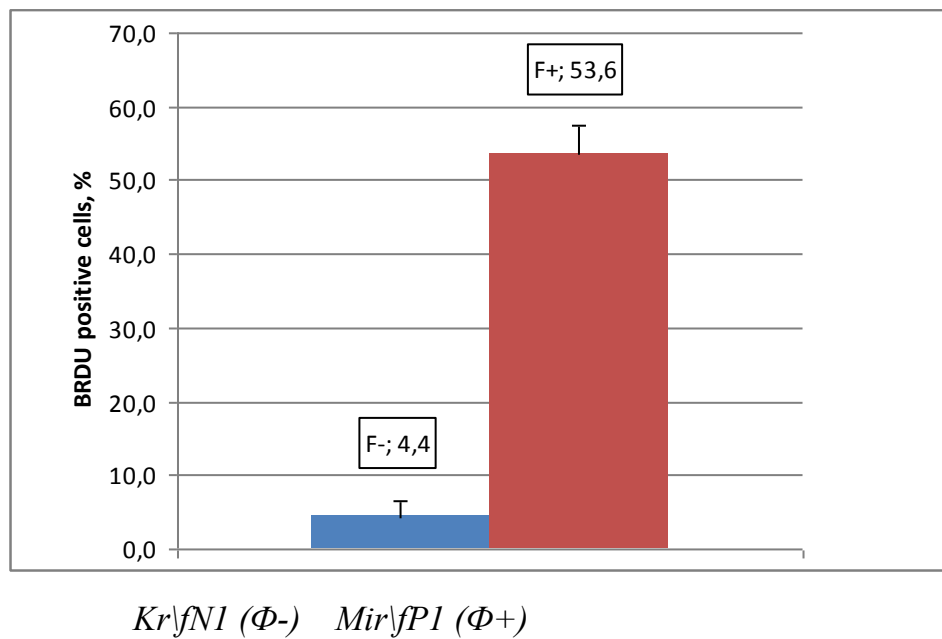


Рисунок 115. Процент BrdU-положительных клеток в флюоресцентно-положительной и флюоресцентно-негативной клеточных культурах. В среднем клеточные культуры по степени пролиферации отличались более чем в 10 раз. (4,4% в Ф- и 53,6% в Ф+).

Резюме главы 12

В данной работе были успешно получены первичные клеточные культуры глиом человека. В этих культурах показано сохранение свойств накопления PpIX при инкубации с АЛК и, таким образом, подтверждена адекватность использования данной модели для изучения свойств феномена протопорфириновой флюоресценции. Детальное изучение феномена флюоресценции PpIX в клеточных культурах глиом человека позволило выявить неоднородность клеточного состава по этому признаку. Такая гетерогенность обнаружена наблюдалась как внутри одной клеточной культуры, так и между различными клеточными культурами. Более того, были обнаружены единичные флюоресцирующие клетки во

флюоресцентно-негативных клеточных культурах глиом человека.

При изучении функционирования гена CPOX, принадлежащего к ферментам пути биосинтеза гема (частью этого пути является биосинтез флюоресцирующего PpIX), было обнаружено большое разнообразие транскрипт-вариантов этого гена и его белковых продуктов. Найдена взаимосвязь между количеством фермента CPOX в клеточных культурах глиом человека и статусом интраоперационной флюоресценции. Сравнительный уровень фермента оказался в 6 раз выше в флюоресцентно-положительных клеточных культурах, чем и ниже в флюоресцентно-отрицательных клеточных культурах. Нокдаун гена CPOX флюоресцентно-положительных клеточных культурах приводил к пропорциональному снижению скорости накопления PpIX, и соответственно к снижению флюоресценции.

Также была показана положительная взаимосвязь между количеством представленного в клеточной культуре фермента CPOX и скоростью пролиферации клеточной культуры. Скорость пролиферации клеток оказалась в 12 раз выше в клеточных культурах, полученных из образцов опухоли, проявивших интраоперационную флюоресценцию.

Полученные в данной работе данные являются новыми и не описанными ранее в литературе. В будущем они позволят повысить эффективность метода фотодинамической диагностики и фотодинамической терапии. Это возможно с помощью двух путей: 1) изменение времени дачи препарата 5 АЛК до операции в большую сторону, поскольку изначально фуоронегативные культуры также обладают способностью синтезировать протопорфирины, но с более низкой скоростью; 2) применение индукторов флуоресценции, в частности витамина D; 3) более широкое применение спектроскопии в хирургических вмешательствах для детекции малых концентраций протопорфиринов поскольку все клетки опухоли гетерогенны в синтезе протопорфиринов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение метаболической навигации в нейрохирургии имеет ряд преимуществ по сравнению с другими методами интраоперационной визуализации, такими как КТ, МРТ, УЗИ, но и ряд недостатков. Общие преимущества и недостатки метаболической навигации с 5-АЛК в нейроонкологии для всех типов опухолей представлены в таблице 51).

Таблица 51 - Общие преимущества и недостатки метаболической навигации с 5-АЛК в нейроонкологии для всех типов опухолей

ПРЕИМУЩЕСТВА 5-АЛК НАВИГАЦИИ	НЕДОСТАТКИ 5-АЛК НАВИГАЦИИ
1) осуществление исследования в реальном времени	1) флуоресценция не визуализируется под свертками крови ввиду ее высокой оптической плотности и под гемостатическим материалом
2) отсутствие влияния смещения мозга	наличие слабо, негомогенно светящихся или не светящихся опухолей
3) прямая визуализация под увеличением микроскопа	флуоресценция снижается в процессе длительного и частого переключения микроскопа ввиду фотобликинга («выбеливания»)
4) передача информации непосредственно от ткани, а не посредством картинки	4) после применения биполярной коагуляции эффект свечения не виден под слоем коагуляционного струпа и гемостатических материалов.
5) возможность многократного и быстрого повторения в течении оперативного вмешательства	
6) использование изолированно без других методик нейровизуализации при наличии яркого гомогенного свечения опухоли	

Несмотря на имеющиеся ограничения методики, применение ФД является быстрым и удобным методом интраоперационной диагностики в нейроонкологии.

Сравнительный анализ чувствительности ФД в хирургии опухолей головного мозга различной гистологической природы (глиомы, менингиомы, метастазы)

Первоначально метод ФД был использован в хирургии злокачественных глиом головного мозга, в результате чего было доказано преимущество флуоресцентной диагностики в хирургии опухолей по сравнению с классической резекцией в белом свете. При анализе исходов лечения пациентов, оперированных с 5-АЛК, было отмечено статистически значимое увеличение общей и 6-месячной безрецидивной выживаемости, а также значительное увеличение частоты достижения полной резекции контраст-накапливаемой части опухоли [189]. В нашей работе чувствительность ФД в лечении злокачественных глиом (Grade III-IV) составила 87,1%, при глиобластомах (наиболее многочисленная подгруппа) – достигала 94%, при анапластических глиомах – 67,4%, что совпадает с данными других исследователей [189; 282; 306; 307]. Однако, радикальность операций в значительной мере определяется функциональной зоной нахождения опухоли. Это подразумевает использование тщательного предоперационного планирования в ситуациях с опухолями функционально значимых зон головного мозга.

В результате сравнительного исследования выявляется высокая чувствительность метода метаболической навигации в хирургии злокачественных глиом (в том числе с продолженным ростом), и интракраниальных менингиом (соответственно, 87,1% и 94%). В хирургии интракраниальных метастазов чувствительность ФД составила (для солидной части опухоли) – 87,3%. Минимальная чувствительность флуоресценции отмечается в хирургии глиом низкой степени злокачественности - 46%, особенно – диффузных астроцитом (25%).

В хирургии глиом высокой степени злокачественности наши данные согласуются с данными зарубежных авторов, полученными при метаанализе крупных серий наблюдений [189]. Согласно литературным данным, основным показанием для применения 5-АЛК остаются глиомы высокой степени злокачественности, однако, недостаточно информации о чувствительности

флуоресцентной диагностики в хирургии LGG [202; 282; 306; 307]. По данным крупного анализа, включающем серию из 827 глиом различной степени злокачественности, частота флуоресценции глиом Grade IV составляет 95,4%, Grade III – 55% (анапластические олигоденроглиомы – 63,9%, анапластические астроцитомы – 46,2%), Grade II – 24,1%, Grade I – 26,3% [157-158]. Однако, даже в крупных сериях наблюдений основное внимание исследователей уделяется глиомам высокой степени злокачественности, а работ, посвященных применению метаболической навигации при LGG, крайне мало [202]. В связи с этим, важным является уточнение показателей чувствительности флуоресцентной диагностики в зависимости от гистологической структуры глиом.

Прогнозирование флуоресцентного эффекта в хирургии глиом головного мозга

Первые работы о применении метаболической навигации в нейроонкологии были выполнены профессором Stummer W. et al (2006) и были посвящены злокачественным глиомам [282]. В результате данных исследований было доказано значимое повышение радикальности и выживаемости пациентов, оперированных с 5 АЛК по сравнению с резекциями в белом свете. Эти данные были позже подтверждены и другими исследователями, в том числе в метаанализах [139]. Показания к применению метода в хирургии глиом низкой степени злокачественности являются дискуссионными. Остается до конца неясным роль различных предоперационных и нейровизуализационных факторов, влияющих на эффективность применения метаболической навигации в хирургии глиом головного мозга различной гистологической структуры. Основной задачей данной главы является поиск различных предикторов наличия флуоресцентного эффекта в хирургии глиом головного мозга. Их можно условно разделить на несколько групп:

А) Клинические

- 1) влияние эпилептических приступов и прием противосудорожных препаратов;
- 2) факт повторных операций.

Б) Нейровизуализационные:

- 3) объем контрастируемой и неконтрастируемой частей опухоли, по данным предоперационного МРТ головного мозга, и наличие в ней кист;
- 4) показатели кровотока в опухоли по данным ASL перфузии (до операции) ;
- 5) показатели метаболизма в опухоли по данным ПЭТ головного мозга с метионином (до операции).

В) Патоморфологические:

- 6) гистология глиомы (Grade, гистология и кисты в структуре опухоли);
- 7) плотность ядер клеток и индекс пролиферативной активности
- 8) IDH 1 мутация

В мировой литературе имеются единичные публикации о влиянии противосудорожных препаратов и дексаметазона на синтез протопорфирина *in vitro* [185] и *in vivo* [300]. В связи с этим необходимо проведение новых исследований о влиянии эпилептического синдрома и приема противоэпилептических препаратов на флуоресцентный эффект у пациентов с глиомами головного мозга.

Имеются единичные упоминания о возможном влиянии противосудорожных препаратов на активность ферментов каскада биосинтеза гема [143]. По данным Nefti M et al. (2012) фенитоин может редуцировать флуоресцентный эффект в клеточных линиях глиом (U 373 MG и U-87 MG) и клетках, полученных из глиомы мозга человека [145]. Фенитоин ингибирует синтез протопорфирина IX в митохондриях, причем эффект носит дозозависимый характер. В результате анализа установлено, что синтез протопорфирина снизился на 55 ± 12 %. Аналогичное исследование влияния левитерацетама не показало снижения синтеза протопорфирина IX в клеточных линиях и культуре глиомы мозга человека [190]. В мировой литературе отсутствует описание влияния противосудорожных препаратов на флуоресцентный эффект у пациентов с глиомами, сопровождающимися эпилептическим синдромом. По данным нашего анализа, наличие или отсутствие эпилептического синдрома не влияет на флуоресцентный эффект во время оперативного вмешательства, однако, у пациентов с доброкачественными глиомами, принимающими противосудорожные препараты,

значимо снижается частота свечения опухолей, что было описано нами ранее. Однако, это не согласуется с данными, полученными зарубежными авторами на большей серии наблюдений [300]. Это может быть связано с включением в анализ в последней работе глиом всех степеней злокачественности, и большим процентом приема левитерацетама (кеппры), достигающем до 58% [300].

По нашим данным, Grade опухоли значимо влиял на интенсивность флуоресценции, что соответствует данным других авторов [188-190]. Согласно мировой литературе, вопрос о флуоресценции доброкачественных глиом является дискуссионным, при этом чувствительность метода, по данным разных авторов, составляет от 0 до 40%, и отличается значительной вариабельностью [139; 202]. Согласно нашим данным, чувствительность метаболической навигации в хирургии глиом низкой степени злокачественности составляет 46%. В литературе имеются противоречивые данные (Таблица 52) о чувствительности ФД при LGG, которая варьирует от 7,7 до 40% [124; 152; 202; 306; 307]. В нашей работе она составила 46,4% (n=26/56), что может быть связано с гетерогенной группой глиом в выборке, при этом наименьшая чувствительность отмечалась при диффузных астроцитомах 25% (6/18).

Таблица 52 - Чувствительность метаболической навигации в хирургии доброкачественных глиом

<i>Чувствительность ФД в хирургии глиом низкой степени злокачественности</i>			
Авторы, год	Количество пациентов	5-АЛК +	Чувствительность, %
Widhalm e.a., 2013 [306-307]	33	4	12
Marbacher e.a., 2014 [202]	20	8	40
Ewelt e.a., 2011 [124]	13	1	7,7
Jaber e.a., 2016 [152]	82	13	15,8
Goryaynov e.a. 2019	56	26	46,4

В работе Ковалева Г.И. видимая флуоресценция отмечена у 8 из 9 глиом низкой степени злокачественности [17]. Таким образом, в нашей серии мы зарегистрировали высокую чувствительность 5-АЛК в хирургии

доброкачественных глиом (46%), что значительно выше данных других авторов. Это может быть связано с тем, что в нашей группе гистология включенных доброкачественных глиом очень гетерогенна и включает глиомы различных гистологических подтипов, в том числе более редких.

Важным условием для аккумуляции протопорфирина опухолевыми клетками является разрыв гематоэнцефалического барьера, что может быть одной из причин отсутствия флуоресцентного эффекта при глиомах низкой степени злокачественности [60]. К возможным причинам отсутствия флуоресценции во время резекции опухолей можно отнести явления выбеливания протопорфирина при слабосветящихся очагах, наличие крови в операционной ране, погрешности в дозировке и времени приема 5-АЛК, а также технические особенности в настройке микроскопа.

При анализе гистологических данных нами выявлено, что олигодендроглиомы флуоресцируют чаще астроцитом, но без влияния на интенсивность свечения. Мы не нашли в мировой литературе подобных публикаций. По данным Marbacher et al. (2014) отмечалась флуоресценция 2 олигодендроглиом и более редкое свечение (41,7%) астроцитарных глиом Grade II, однако в данной серии было небольшое количество данных опухолей низкой степени злокачественности [202]. В то же время, при анализе глиом Grade III в указанной серии видимая флуоресценция зарегистрирована только у 22,2% пациентов с анапластическими астроцитомами по сравнению с 82-83% пациентов с анапластическими олигодендроглиомами. Олигосодержащие глиомы, таким образом, показывают более частое свечение, что может быть объяснено их более высокой метаболической активностью по сравнению с астроцитомами, что находит свое подтверждение при ПЭТ с метионином. При изучении ПЭТ семиотики глиальных опухолей рядом авторов было установлено, что олигодендроглиомы имеют больший индекс накопления метионина, чем астроцитомы [34].

Имеются единичные наблюдения о флуоресценции кистозных глиом, прежде всего пилоидных астроцитом, ганглиоглиом и ксантоастроцитом [227]. Мы не выявили влияния наличия кистозного компонента в глиоме ни на факт свечения,

ни на его интенсивность. По данным литературы, наличие кист в структуре злокачественных глиом может быть связано с их менее агрессивным течением и лучшей выживаемостью [182].

При сравнении ПЭТ с аминокислотами и 5-АЛК навигации в хирургии глиом показано, что при HGG глиомах ПЭТ показала повышенный индекс накопления в 86% случаев, тогда как 5-АЛК оказалась эффективной в 57% случаев [129]. В нашей серии ПЭТ с метионином перед операцией выполнена у 20 пациентов, из них у 3 - с продолженным ростом опухоли с показателями индекса накопления метионина от 1 до 4. В результате проведенного анализа была установлена значимая взаимосвязь между показателями накопления метионина, по данным ПЭТ до операции, и интенсивностью флуоресценции, при этом пороговое значение индекса накопления метионина составило 2.2. По данным Pala и соавт. (2019), применение ПЭТ с метионином имеет максимально высокую чувствительность (95%) для выявления остаточной опухоли по сравнению с 5-АЛК (69%) и МРТ с контрастированием (50%) [304]. Это подчеркивает важность поиска взаимосвязи между пред и интраоперационной метаболической навигацией, с метионином и 5-АЛК, соответственно. Ранее, рядом авторов исследовалась связь предоперационной (с ПЭТ с метионином) и интраоперационной метаболической навигации с 5-АЛК [170], также их влияние на клеточную плотность глиом [66]. Как известно, метаболическая активность, по данным ПЭТ с метионином, у олигодендроглиом глиом выше, чем у астроцитом [34]. В связи с этим, актуальным является сравнение флуоресцентного эффекта при данных типах глиом, что недостаточно изучено в мировой литературе [181]. На основании наших данных получено, что индекс накопления метионина по данным ПЭТ является надежным предиктором флуоресценции опухоли.

Исследование параметров контрастирования глиом и флуоресценции выполнялись различными авторами [306-307]. Согласно нашим данным, флуоресцирующие глиомы имели значимо больший объем контрастирующейся части, по данным предоперационной МРТ, чем нефлуоресцирующие. Для неконтрастирующейся части опухоли была выявлена граница статистической

значимости. Рядом авторов показано значимое влияние контрастирования глиомы на флуоресцентный эффект. В тоже время, были описаны более редкие случаи флуоресценции при неконтрастирующихся анапластических глиомах [306-307].

Известно, что часть пациентов с глиомами (для глиобластом до 6%, для анапластических глиом до 34%, для диффузных астроцитом до 75%, для олигодендроглиом до 50%) показывают отсутствие флуоресцентного эффекта во время операции. Флуоронегативные глиомы могут встречаться как среди HGG, так и среди LGG. Псевдонепрерывная ASL позволяет прогнозировать наличие интраоперационной флуоресценции глиом головного мозга на дооперационном этапе при использовании нормированных показателей опухолевого кровотока. Чувствительность данной методики составляет 73,9%, специфичность – 72,7%, при оптимальном пороговом значении кровотока 3.3, AUC = 0,716. Таким образом, при анализе количественных уровней кровотока в глиомах получена достоверная связь с фактом свечения опухоли, следовательно уровень количественного кровотока по данным дооперационной бесконтрастной ASL перфузии может быть предиктором наличия свечения глиомы во время оперативного вмешательства.

При анализе влияния факта повторной резекции мы не нашли значимых отличий между флуоресцентным эффектом в ходе первичных и повторных резекций глиом. По данным различных авторов, показана высокая чувствительность метаболической навигации в хирургии злокачественных глиом с продолженным ростом. Так, чувствительность выявления опухоли у данной группы пациентов составила 91,7% при сильном свечении и 83,3% - при слабом [226]. Интраоперационная визуализация при продолженном росте глиом высокой степени злокачественности после предшествующего адьювантного лечения значительно затруднена вследствие сопутствующих явлений постлучевого патоморфоза.

К сожалению, метод флуоресцентной диагностики не позволяет дифференцировать специфическое накопление ПП IX в опухоли и неспецифическое - в зоне радионекроза. Так, при исследовании 354 биоптатов, взятых в местах с положительной видимой флуоресценцией от 40 пациентов,

авторы выявили ложноположительные биоптаты только в 12 (3,4%) случаях. В этих наблюдениях отмечалось наличие видимого свечения при отсутствии опухолевых клеток в биоптатах [226]. В литературе описаны случаи видимой флуоресценции при демиелинизирующих заболеваниях и лучевых некрозах после проведения радиотерапии. В данных наблюдениях ложноположительные результаты могут быть объяснены инфильтрацией перифокальной области реактивными астроцитами и макрофагами, аккумулирующими 5-АЛК [226].

Интересным, на наш взгляд, является значимо более частое и яркое свечение IDH 1 (-) глиом по сравнению с IDH 1 (+). Обратная связь была выявлена на клеточных культурах Ja Eun Kim (2015) [154]. Возможно, глиомы с отсутствием данной мутации склонны накапливать протопорфирин в больших количествах за счет более агрессивного биологического поведения.

Выявление анапластических фокусов в структуре диффузных глиом

Остается нерешенным вопрос о фокусах интраоперационной флуоресценции неконтрастирующихся, по данным МРТ, глиом. Так ряд авторов, относят эти опухоли к Grade III глиомам и всегда находят в зонах свечения участки атипии, не соответствующие доброкачественным глиомам со значимо большим уровнем индекса Ki 67 [307]. Согласно нашим данным, мы выявили значимые отличия в значениях индекса пролиферативной активности в подгруппе глиом Grade II. Данная зависимость стирается при сравнении индекса у флуоропозитивных и флуоронегативных глиом Grade II-IV. На наш взгляд, это может быть связано с высокой частотой свечения глиом низкой степени злокачественности в нашей группе (46%), имеющих индекс Ki 67 ниже 5%, отсутствием свечения у трети пациентов с анапластическими глиомами, а также с выраженной гетерогенностью глиальных опухолей. В то же время в классических работах Widhalm [307] была продемонстрирована значимая взаимосвязь между пролиферативным индексом Ki 67 и флуоресцентным эффектом в хирургии глиом высокой степени злокачественности.

По наблюдениям Duffau H. (2014) в 30% случаях глиом Grade II имеют место

микро- (<1см) либо макрофокусы (>1см) опухоли, имеющие высокую клеточную плотность, или в ряде случаев клеточную атипию, нередко повышенный индекс Ki-67. Эти зоны могут быть либо единственными, либо множественными [111]. Однако, в данных случаях достаточных оснований для постановки диагноза глиома Grade III нет. Согласно нашим данным, в фокусах свечения доброкачественных глиом пролиферативный индекс Ki 67 и плотность ядер клеток были значимо выше, чем в нефлуоресцирующих участках опухоли. Плотность ядер клеток, наряду с пролиферацией эндотелия сосудов, плеоморфизмом ядер и пролиферативным индексом является одним из маркеров атипии в опухоли [207]. В отличие от данных Widhalm, пролиферативный индекс Ki 67 в нашей серии у части пациентов не превышал 5%, то есть частично светящиеся фокусы глиомы сохраняли Grade II степень, хотя имели больший пролиферативный индекс и плотность ядер клеток, чем несветящиеся участки опухоли. В тоже время, в 25% случаев в структуре диффузных глиом Grade II были выявлены фокусы Grade III и диагноз глиомы был трансформирован в анапластическую. Это означает, что применение ФД в хирургии диффузных глиом обосновано прежде всего для выявления возможных фокусов анаплазии и проверки этих фокусов для прицельного патоморфологического исследования (которое может выявить в этих зонах как Grade II, так и Grade III зоны).

Аккумуляция протопорфиринов в доброкачественных глиомах в половине случаев носит фокусный характер и может быть слабой степени выраженности. Это дает основание использовать ФД при доброкачественных глиомах для прицельной биопсии светящихся зон доброкачественных глиом, поскольку они содержат более агрессивные участки опухоли. При этом в случае наличия анапластических фокусов в глиомах Grade II, которые содержали зоны с пролиферативным индексом Ki 67 выше 5%, данные опухоли мы относили к анапластическим глиомам Grade III.

Более глубокое изучение молекулярных аспектов флуоресцентной диагностики опухолей головного мозга возможно в случае использования метода множественных биопсий, что позволяет проводить отдельную оценку свечения для

каждого биоптата и сопоставлять эти данные с различными патоморфологическими характеристиками. К ним традиционно относят: пролиферативный индекс Ki 67 (MIB-1), плотность ядер клеток, пролиферацию эндотелия сосудов, наличие некрозов [307]. В частности, показана корреляция между индексом Ki 67 (от 1,7% до 23,9%) и степенью выраженности свечения в глиомах, при этом яркая флуоресценция всегда отмечается в участках солидной части опухоли с высокой плотностью клеток, наличием атипии, митозов и пролиферации эндотелия сосудов [150]. Однако, в участках слабого свечения до 20-30% биоптатов могут иметь высокий пролиферативный индекс, в тоже время, 33% нефлуоресцирующих биоптатов имеют повышенные участки плотности клеток и зоны атипии [150]. Вероятно, данные особенности связаны с выраженной гетерогенностью глиальных опухолей, при этом показано, что образец с содержанием даже 20% клеток имеет флуоресценцию [283]. В связи с этим, на наш взгляд, важным является сравнение индекса пролиферативной активности Ki 67 для флуоресцирующих и нефлуоресцирующих глиом, а также во флуоропозитивных и флуоронегативных участках глиом низкой степени злокачественности.

Применение флуоресценции при СТБ

Основное внимание исследователей, занимающихся изучением метаболической навигации в нейроонкологии, посвящено аспекту применения метода при микрохирургических операциях, значительно меньше работ о флуоресцентной диагностике при операциях стереотаксической биопсии [271]. В связи с этим, необходимо проведение собственного анализа данных о преимуществах и недостатках данного метода.

Для уменьшения частоты неинформативных биопсий хирургами используется совмещение МРТ и ПЭТ изображений, ожидание результатов срочной биопсии в операционной, и применение интраоперационной флуоресценции [36]. Ожидание срочного гистологического заключения во время проведения операции СТБ повышает информативность биопсии, однако

увеличивает время операции в 2 раза, что сопряжено с дополнительными расходами клиники. Кроме того, при неинформативном первом биоптате, нейрохирург будет ожидать результат повторного срочного гистологического исследования, что еще больше увеличивает время хирургии. Одним из надежных инструментов для проверки информативности биоптатов перед их отправкой в лабораторию патоморфологии, а также для отбора наиболее информативных биоптатов может служить 5-АЛК ассистенция при СТБ [169].

Одна из первых работ, посвященных применению 5-АЛК при СТБ опубликована доктором G. Widhalm у 50 пациентов (2012) [306]. Видимая флуоресценция 5-АЛК наблюдалась у 43/50 пациентов (сильная у 39 и неопределенная флуоресценция в четырех случаях). Все образцы тканей с сильной флуоресценцией 5-АЛК были репрезентативными в соответствии с гистопатологическими критериями (прогностическая ценность положительного результата 100%). Сильная флуоресценция с 5-АЛК является надежным и доступным интраоперационным маркером типичной опухолевой ткани злокачественных глиом и лимфом при СТБ. Однако, чувствительность ФД при LGG в данной работе составила 0%. Таким образом, применение 5-АЛК при стереотаксической опухоли (СТБ) головного мозга может уменьшить время оперативного вмешательства [306]. Ниже приведены результаты, согласно данным литературы, применения ФД при СТБ (Таблица 53).

Таблица 53 - Использование метаболическо навигации при проведении стереотаксической биопсии опухолей головного мозга

Автор, год	Количество пациентов	5-АЛК (+)	Истинно положительный результат ¹ , %	5-АЛК (-)	Ложно отрицательный результат ² , %
Piquer e.a., 2014 (Piquer et al., 2014) [246]	8	7/8	100.0	1/8	100.0
Widhalm e.a., 2012 (Widhalm et al., 2012) [306]	50	43/50	100.0	7/50	100.0
Marbacher e.a., 2014 [202]	52	44/50	100.0	6/50	100.0
Серия ВМА ³	20	18/20	94.4	2/20	50.0
Итог	130	112/130	98.6	18/130	87.5

Анализируя данные из таблицы можно сделать вывод, что в среднем 98,6% 5-АЛК позитивных проб, полученных при стереотаксической биопсии, при гистологическом анализе идентифицируются как опухоль. Но в среднем в 87,5 % случаев выявляется ложно отрицательный результат.

¹ Истинно положительный результат – в 5-АЛК-позитивной пробе гистологически подтвердилась опухоль

² Ложно отрицательный результат – в 5-АЛК-негативной пробе гистологически определена опухоль

³ Военно-Медицинская Академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург)

В исследовании Marbacher S. 2014 [202] чувствительность метода СТБ с ФД составила 88% (n=44/50), а при глиомах низкой степени злокачественности - 25% (3/12). Малое количество наблюдений в нашей серии не позволяет провести сравнительный анализ чувствительности ФД у пациентов с доброкачественными глиомами головного мозга в подгруппе с СТБ. При анализе 79 пациентов с СТБ и

использованием 5-АЛК [215] сильная флуоресценция была выявлена в 62 наблюдениях (79%), слабая в 4 (5%), отсутствие флуоресценции – в 13 случаях (16%). При этом при сильном свечении биоптата точность биопсии без ожидания срочного патоморфологического исследования была сопоставима со случаями несветящихся/слабо светящихся биоптатов, но с интраоперационным заключением патоморфолога, а время операции (41 мин против 77 мин.) и количество забираемых биоптатов (3,6 vs 4,9) были значимо меньше. Различий между количеством осложнений в группах не выявлено [279]. Таким образом, применение 5-АЛК в ходе СТБ может являться новой хирургической стратегией [215].

При анализе серии пациентов с лимфомами головного мозга при СТБ (n=41), проведенного под руководством проф. G. Widhalm в 2018 г, выраженная флуоресценция выявлена у 30 пациентов (75%), неопределенная флуоресценция у 2 пациентов (4%) и отсутствие видимой флуоресценции у 9 пациентов (21%). Гомогенная внутриопухолевая флуоресценция была обнаружена в 16 из этих случаев (57%), а неоднородная - в 12 (43%). Согласно гистопатологическому анализу, все образцы с сильной или неопределенной флуоресценцией содержали диагностическую ткань лимфомы, что привело к положительному прогностическому значению метода, оцененного авторами в 100%. Анализ не выявил влияния назначения предоперационных кортикостероидов или иммуносупрессивных препаратов на флуоресценцию.

Таким образом, данные, полученные в этом исследовании, демонстрируют техническую и клиническую полезность 5-АЛК-индуцированной флуоресценции при стереотаксических биопсиях лимфом головного мозга, а 5-АЛК может служить полезным инструментом для отбора пациентов, для которых не требуется ожидание интраоперационного патоморфологического исследования. Применение 5-АЛК должно значительно сократить время операции и связанные с этим расходы в будущем [169].

Метод Widhalm во время СТБ с флуоресцентным контролем использован у 18 пациентов в нашей серии. После извлечения биоптатов из точки цели последние

помещались под флуоресцентный свет лампы микроскопа. Для патоморфологического исследования отбирались биоптаты с максимальным свечением, при этом проводилась селекция светящихся биоптатов в отдельной пробирке. Метод СТБ с ФД показан для селекции биоптатов и проверки информативности биопсии у пациентов с лимфомами и злокачественными глиомами (чувствительность 83,3%). Общая чувствительность метаболической навигации, включая глиомы низкой, высокой степени злокачественности и лимфомы в нашей серии составила 63,1%. При сильном свечении у хирурга присутствует большая уверенность в информативности забранного материала, что может не требовать ожидания результатов срочного заключения патоморфолога и приводит к уменьшению времени оперативного вмешательства.

Таким образом, на наш взгляд, практические рекомендации по использованию ФД при СТБ могут быть полезны для определения и селекции по принципу свечения наиболее ярких биоптатов с целью последующего патоморфологического исследования прежде всего у пациентов со злокачественными глиомами и лимфомами головного мозга. Небольшое количество наблюдений в нашей серии подтверждает необходимость дальнейшего накопления клинического материала.

Прежде всего следует отметить, что применение 5-АЛК при СТБ должно быть ограничено опухолями с ожидаемой яркой флуоресценцией (прежде всего, хорошо контрастирующимися на МРТ, в частности при подозрении на лимфомы и глиомы высокой степени злокачественности). Однако, и в этих случаях, следует помнить о возможности гетерогенного свечения. При этом, согласно данным Widhalm et al., прием кортикостероидов не влиял на эффект свечения при СТБ, он же подтверждает гетерогенное, неоднородное свечение у 43% пациентов с лимфомами головного мозга [169].

Флуоресценция при СТБ может использоваться как с оценкой свечения биоптата после его изъятия с помощью флуоресцентного режима микроскопа, как было предложено профессором Widhalm; так и с применением лазерной спектроскопии до изъятия биоптата с поиском зоны с максимальной аккумуляции

РРІХ. Последний способ требует модернизации канюли с включением в неё специального спектрального зонда (Горайнов С.А. и соавт., патент № № 2529629). Сочетание методов СТБ и флуоресцентной спектроскопии более удобно и не требует наличия в операционной микроскопа, оснащенного флуоресцентным модулем, а также дает возможность при поэтажной биопсии выбирать участок опухоли с наибольшей степенью анаплазии, что повышает диагностическую ценность стереотаксической биопсии как метода, в том числе при глиомах низкой степени злокачественности [246; 306]. Данная гипотеза основана на данных Мартынова Б.В. и соавт., которые зарегистрировали накопление протопорфирина в доброкачественных глиомах при СТБ, а также данных Sanai [258], который доказал аналогичную закономерность при использовании конфокальной микроскопии и обширном материале НМИЦ нейрохирургии им. Бурденко, согласно которым, частота видимого свечения при глиомах низкой степени злокачественности достигает 46%.

Метаболическая навигация при опухолях функционально значимых зон головного мозга

Целью хирургического лечения глиом головного мозга является оптимизация степени резекции (EOR) при сохранении качества жизни. Метаанализ литературных данных показал, что тотальная резекция улучшает выживаемость без прогрессирования заболевания и общую выживаемость (ОВ) при глиобластомах [70].

Тем не менее, максимальная резекция глиом может быть затруднена вследствие сложности определения границы опухоли, особенно с помощью микроскопа в белом свете, из-за ее инфильтративных свойств. В связи с этим использование флуоресцентной диагностики (FGS) с 5-аминолевулиновой кислотой (5-АЛК) повышает возможности интраоперационной демаркации границ опухоли [282]. В тоже время, если есть расхождения в данных между прямой электрической стимуляцией и флуоресценцией, нейрохирурги должны полагаться на функциональное картирование. Например, если флуоресценция обнаруживает

остаточную глиому, но электрическое картирование показывает, что она распространяется в функциональную зону, резекция опухоли должна быть остановлена, чтобы сохранить проводящие пути [125].

Ранее в ряде работ было показано сочетанное применение 5-АЛК и прямой электрической стимуляции при картировании моторных зон коры и пирамидных трактов [240; 243]. Работ, посвященных сочетанному применению 5-АЛК и картирования корковых речевых зон и длинных ассоциативных трактов мозга при операциях в сознании, в доступной литературе крайне мало [94]. В связи с этим основной задачей данной главы является описание методик предоперационного планирования в хирургии глиом, вовлекающих корковые зоны речи и длинные ассоциативные тракты мозга, и особенностей сочетанного применения метаболической навигации и краниотомии в сознании у данных пациентов.

Первым этапом при выполнении краниотомии в сознании с использованием метаболической навигации осуществляется поиск кортикальных речевых зон. Как видно из результатов нашего исследования, значительно чаще удавалось локализовать зону Брока (82%) по сравнению с зоной Вернике (18%), при этом в 30% при хирургии с пробуждением в ходе электрической стимуляции корковые зоны речи не были обнаружены. Безусловно, очень важным является подбор тестов для операции с опытным нейропсихологом, который должен проводиться индивидуально для каждого пациента. Так, использование теста автоматизированной речи (называние по порядку чисел, дней недели, месяцев) во время операции с «пробуждением» не позволяет выявлять височный компонент афазии, который может быть ведущим, и требует применения теста на называние картинок.

В ходе выполнения краниотомии в сознании при сочетанном применении метаболической навигации необходимо остановить резекцию даже при наличии остаточной флуоресценции в случае появления речевых нарушений у пациента. В нашей серии у 5 из 12 пациентов с сочетанным использованием метаболической навигации и краниотомии в сознании были выявлены волокна длинных ассоциативных трактов при остаточной флуоресценции в ходе удаления глиом

доминантной лобной доли. Резекция во всех случаях была приостановлена. В мировой литературе описано единичное исследование, посвященное сочетанному применению краниотомии в сознании и метаболической навигации [94].

Вопрос о проведении краниотомии в сознании у пациентов со злокачественными глиомами обсуждается в литературе, при этом некоторые авторы настаивают на применении метода исключительно при глиомах низкой степени злокачественности [115-116]. Во первых, часть из этих пациентов может иметь афатические нарушения до операции, поскольку зона некроза разрушает тракты белого вещества. Во вторых, если остановить резекцию при злокачественной глиоме, то возможно кровоизлияние в остаточную опухоль. Однако, было показано, что при применении краниотомии в сознании в хирургии злокачественных глиом отмечается большая степень резекции и меньшее число послеоперационных осложнений, по сравнению с операциями с общей анестезией [136]. В то же время один из авторитетных ученых, занимающихся краниотомией в сознании, профессор Duffau, считает обоснованным применение данного метода, в основном, в хирургии глиом низкой степени злокачественности. У данных пациентов основным клиническим проявлением заболевания является пароксизмальная симптоматика, а явления афазии до операции, как правило, встречаются реже. В целом, краниотомия в сознании обеспечивает выполнение большей радикальности, меньшего количества осложнений после операций и способствует увеличению выживаемости у пациентов [136]. В нашей серии из 28 пациентов с выполнением метаболической навигации и краниотомии в сознании с картированными корковыми зонами речи у 18 пациентов (64%) отмечались глиомы высокой степени злокачественности.

При наличии у пациента глиобластомы или анапластической глиомы, локализованной вблизи корковых зон речи или аркуатного тракта (в лобной, теменной или височной долях доминантного полушария) с относительно сохранной речевой функцией до операции (как правило, это возможно при опухолях небольшого размера) может быть выполнено удаление опухоли с метаболической навигацией с проведением краниотомии в сознании. При

аналогичной ситуации с глиомами LGG следует иметь ввиду, что чувствительность 5-АЛК в хирургии доброкачественных глиом диагностики не превышает 46%. При появлении речевых нарушений во время резекции опухоли удаление должно быть остановлено даже при наличии остаточного свечения.

Локализация глиом вблизи двигательных и речевых зон мозга также не является противопоказанием к применению ФД при условии нейрофизиологического мониторинга. Нами описаны различные варианты соотношения флуоресцирующего остатка опухоли и локализации функциональных зон (трактов) – полное совпадение (при диффузном свечении – тип 1), частичное совпадение (при фокусном свечении – тип 2) и несовпадение функциональной зоны и светящейся части опухоли (тип 3). Продолжение резекции опухоли было невозможно ввиду опасности повреждения инфильтрированных глиомой длинных ассоциативных трактов мозга у 6 пациентов (15% наблюдений), однако у 35% пациентов с локализацией глиом в речевых зонах и у 41% - в двигательных зонах резекция флуоресцирующей части опухоли была возможна ввиду ее несовпадения с функциональной зоной в операционной полости (типы 2 и 3). Таким образом, метаболическая навигация и функциональное картирование мозга являются комплементарными методами в руках нейрохирурга.

Исходы хирургического лечения глиом высокой степени злокачественности, оперированных с применением метаболической навигации

Следует отметить, что по данным литературы за последние 10 лет отмечается рост числа более радикальных операций при глиомах головного мозга. Так, ряд авторов отмечает, что частота радикальных операций при резекциях глиом низкой степени злокачественности значимо увеличилась с 21,5% в 2006 году до 60,8% в 2017. Общая пятилетняя и 10-летняя выживаемость увеличилась с 81,8% и 51,7% в 2006 году до 100% и 95,8% в 2017 году ($P < 0,001$) [277]. В хирургии глиом высокой степени злокачественности, и прежде всего, глиобластом, также отмечается улучшение исходов при комбинированном лечении. Так, в 2001-2003

годах медиана общей выживаемости составляла 7,4 мес., в 2010-2012 гг – 10,6 мес. Частота двухлетней выживаемости при глиобластомах в 2001-2003 годах составляла 8,2%, в 2012-2012 гг – 18,3%. В 2015 году медиана общей выживаемости составила 24,1 мес при повторных резекциях и до 20,4 мес при проведении одного оперативного вмешательства с последующим комбинированным лечением [161].

По данным метаанализа д.м.н. Бывальцева В.А. (2017), включающего данные 26 исследований (2000-2017 гг.) о клинической эффективности применения метаболической навигации в хирургии глиом высокой степени злокачественности было выявлено: 1) максимальная резекция контрастируемой части опухоли выполнена у 74,8% пациентов; 2) увеличился безрецидивный период у пациентов с глиобластомами на 8,14 мес.; 3) увеличилась общая выживаемость у пациентов с глиобластомами на 4,35 - 6,17 мес. по сравнению с операциями, выполненными в белом свете, при этом чувствительность метода составила 79,8 - 82,2%, а специфичность - - 86,6 - 87,5% [7].

Волюметрический анализ пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с применением метаболической навигации

В исследовании Stummer (2006), было показано достижение резекции контрастируемой части (GTR) опухоли в 65% в группе 5-АЛК против 36% в группе пациентов, оперированных в белом свете [282].

Несколько позже проф. R. Diez Valle сообщил на меньшей серии о достижении GTR в 83% наблюдений [107]. Метаанализ, выполненный Haider SA и соавт [140], посвященный анализу влияния 5-АЛК в хирургии HGG на степень резекции, включал 741 исследование (1998-2018гг). Из них только 8 статей удовлетворило строгим критериям авторов, при этом только 6 работ показали значимое увеличение степени резекции опухоли, в остальных 2 статьях показано только значимое увеличение безрецидивного периода [140]. Более подробные данные о влиянии хирургии с 5-АЛК на радикальность операций, безрецидивную и общую выживаемость приведены в Таблице 54.

Таблица 54 - Данные литературы о выживаемости и радикальности операций при использовании 5-АЛК

Авторы	Кол-во больных	6-месячная безрецидивная выживаемость, %		Общая выживаемость, мес		Радикальность удаления, %	
		Без ФД	С ФД	Без ФД	С ФД	Без ФД	С ФД
Stummer/2006 [282]	322	21,1%	41%	-	-	36%	65%
Stummer/2011 [281]	349	28,3%	46%	13,7	14,3	-	-
Diez Valle/2011 [107]	243	-	68%	-	-	-	83,3%
Schucht/2012 [267]	56	-	-	-	-	-	89%
Deiz Valle/2013 [107]	251	48%	69%	-	-	45%	67%
Sloty/2013 [276]	253	-	-	16,6	20,1	27%	48,5%
Roder/2013 [253]	66	-	45%	-	-	-	46%
Della Puppa/2014 [106]	94	-	-	-	-	-	93%

Как видно из таблицы в группе пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с 5-АЛК, отмечалось значимо большая частота радикальности оперативных вмешательств [107; 276; 282], увеличения общей выживаемости на 3,5 мес [276], 6 месячной безрецидивной выживаемости [107; 282]. Однако, по данным Jenkinsson несмотря на то, что 5-АЛК способствовал достижению полноты резекции (отношение шансов: 3,19, P = 0,01, 95% ДИ: 1,28, 7,93), флуоресценция не оказывала влияния на общую выживаемость или выживаемость без прогрессирования [153], что может быть связано с биологией злокачественных глиом – прежде всего их инфильтративному росту и склонностью к рецидивам.

При данным метаанализа [133], включающем 19 исследований с волнометрическим анализом (998 пациентов) с глиомами головного мозга,

оперированными с 5-АЛК, средняя частота достижения GTR составила 76,8% в группе с 5-АЛК (доверительный интервал 95%, 69,1-82,9%). Для исследования влияния 5-АЛК на выживаемость было отобрано 11 исследований, в том числе 4 с известными результатами безрецидивной выживаемости при глиомах, оперированных с 5-АЛК. Показано значимое увеличение общей выживаемости на 3 мес. и безрецидивной – на 1 мес. Таким образом, этот метаанализ показывает значительное увеличение частоты GTR при удалении глиом 5-АЛК с достижением более высокой частоты GTR (~ 76%), чем в исследовании III фазы Stummer (2006) - (~ 65%) [282].

В нашем исследовании при волюметрическом анализе было установлено, что частота тотальных и супратотальных резекций, по данным МРТ головного мозга, выполненных в раннем послеоперационном периоде, в нашей группе составила 77,8%, при этом до 88,6% пациентов со злокачественными глиомами, имели различные степени резекций контрастируемой и неконтрастируемой части опухоли. При этом, только у 11,4% пациентов выявлено совпадение объемов остатка опухоли в T1 режиме (контрастируемая часть) и T2-FLAIR режиме (неконтрастируемая часть) при радикальных резекциях на ранней послеоперационной МРТ. Ранее в работах других авторов было показано влияние объема глиобластомы в режиме T2-FLAIR после комплексного лечения на выживаемость пациентов [134]. Таким образом, общий процент тотальных и субтотальных резекций контрастирующейся части злокачественных глиом в нашей группе составил 77,8% (по данным МРТ с контрастированием в T1 режиме, выполненной в первые 48 часов после операции), что выше результатов первых работ Stummer et al. (2006) [380], где данный показатель составлял 65% в группе пациентов с 5-АЛК (в группе контроля – 36%), Stummer et al. (2006) [282].

Значимое влияние на радикальность операции в хирургии глиом с использованием метаболической навигации оказали немодифицируемые факторы такие как: локализация опухоли в лобной доле, инвазия глубинных структур (таламус, базальные ганглии, мозолистое тело), объем контрастируемой и, особенно, неконтрастируемой частей опухоли, по данным дооперационной МРТ.

Интенсивность свечения опухоли прямо коррелировала с объемом остатка, по данным послеоперационной МРТ, в режиме SPGR, что связано с большим объемом флуоресцирующих опухолей относительно нефлуоресцирующих или слабо флуоресцирующих в нашей выборке.

При сравнении остаточных объемов контрастируемых и неконтрастируемых глиом, выявлено, что объем остатков в режиме T2-FLAIR для неконтрастирующихся глиом было значимо больше, чем объем остатков в режиме SPGR для контрастирующихся. Данный факт обусловлен сложностью детекции границ неконтрастирующихся глиом во время операции с окружающими тканями мозга в связи со значительно более низкой частотой флуоресценции доброкачественных глиом по сравнению со злокачественными (94% и 46%, соответственно).

Выживаемость пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с применением метаболической навигации

При анализе общей выживаемости при глиобластомах в нашей группе, оперированных с применением метода ФД, медиана составила 22 мес, а медиана безрецидивного периода - 10 мес. По литературным данным метаанализа [160] с 2010 по 2018 г произошло удвоение медианы общей выживаемости при глиобластомах. Авторы провели анализ общей и безрецидивной выживаемости 635 пациентов с глиобластомами, пролеченными в различные временные периоды с 2007 по 2019 гг (Таблица 55).

Таблица 55 - Последние данные мировой литературы о выживаемости пациентов с глиобластомами головного мозга (OS/PFS) в 2010 и в 2018г, динамика роста ($p < 0,05$)

Год	Показатель	Медиана, мес	Разброс, мес
2010	OS	10.0	95% ДИ: 8.8-11.2
2010	PFS	9.0	95% ДИ: 7.5-10.5
2018	OS	23.0	95% ДИ: 17.5-28.5
2018	PFS	20.0	95% ДИ: 16.9-23.1

Таким образом, в нашей группе медиана общей выживаемости соответствует данным метаанализа Jiang [160]. Однако, имеются серьезные различия в медиане безрецидивного периода при глиобластомах: по данным этого исследования он составил в среднем 10 мес, в то время как по данным иностранных коллег в 2018г – 20 мес. (разница в 2 раза). При этом, на наш взгляд, в данной работе отмечается небольшая разница между сроками общей (23 мес) и безрецидивной выживаемости (20 мес.) [160].

В нашем исследовании наличие или отсутствие остаточного свечения опухоли и степень флуоресценции глиом не влияли на выживаемость. По данным Aldave и соавт (2013), объем флуоресценции злокачественных глиом превышает их контрастирование, согласно дооперационной МРТ [43]. При сравнительном анализе серии, включающей 50 пациентов с глиобластомами имеющими остаточную флуоресценцию в конце резекции, было показано значимое различие в общей выживаемости относительно пациентов без остаточной флуоресценции перед гемостазом (17 и 27 мес, соответственно) [43].

При оценке выживаемости пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с применением метода метаболической навигации, огромное влияние на исходы оказывает, помимо хирургического вмешательства, проведение адъювантного лечения. Так, по данным д.м.н. Г.Л. Кобякова (2015), примерная картина динамики медианы выживаемости больных с глиобластомой будет следующей: от 12,6 мес в работах член-корр. РАН А.В. Голанова (1999) и 12,5 мес – д.м.н. Г. Л. Кобякова (1998), где темозоламид не использовался, до 17,6 мес – где темозоламид назначался, но без авастина, и до 21,5 мес. – в серии больных с рецидивом глиобластомы (применен и темозоламид, и авастин при рецидивах) (Таблица 56) [16; 18].

Таблица 64 - Увеличение медианы общей выживаемости у больных с глиобластомами головного мозга за последние 20 лет в связи с изменением режимов химиотерапии [16; 18]

Автор	Год	Режим адьювантного лечения после операции	Медиана общей выживаемости, мес.
Кобяков Г.Л.	1998	ЛТ	12,5
Голанов А.В. [11]	1999	ЛТ	12,6
Кобяков Г.Л.	2010	ХЛТ (темозоламид)	17,6
Кобяков Г.Л. [18]	2015	ХЛТ (темозоламид+авастин)	21,5

Таким образом, в последнее десятилетие отмечается тенденция к увеличению медианы общей выживаемости больных с глиобластомами, а в последние несколько лет, по данным различных авторов, увеличение продолжительности жизни нельзя не связать с использованием бевацизумаба (вероятно, во 2-й линии лечения), [16; 18]. В тоже время по данным литературы, отсутствуют четкие доказательства улучшения общей выживаемости в хирургии злокачественных глиом при использовании 5-АЛК. Влияние хирургии в целом на общую выживаемость, выживаемость без прогрессирования заболевания при глиобластомах и качество жизни по прежнему не ясны [153].

По нашим данным, при изучении катамнеза пациентов с глиобластомами, оперированными с применением метаболической навигации в настоящем исследовании установлено, что медиана общей выживаемости составила 22 мес., что соответствует среднемировой на текущий момент. Медиана безрецидивной выживаемости при глиобластомах, оперированных с применением метаболической навигации, достигает 10 мес. Объем опухоли в режиме T2-FLAIR до и после операции значимо влияет на сроки безрецидивной выживаемости в подгруппе злокачественных глиом.

По данным зарубежных исследователей, при метаанализе, включающем 23 исследования, посвященных применению метаболической навигации с 5 АЛК в

хирургии глиом головного мозга высокой степени злокачественности, степень резекции опухоли была проанализирована в 19 работах, включающих 998 пациентов. В результате было установлено, что медиана частоты достижения GTR (тотальное удаление контрастируемой части опухоли) составила 76,8% (95% ДИ 69,1-82,9%), что было на 26% выше, чем при резекциях в белом свете (различия были статистически значимы). Из данных исследований только в 11 проводился анализ общей, и в 4 – безрецидивной выживаемости. Различия в общей выживаемости в подгруппе пациентов, оперированных с использованием метаболической навигации, составили 3 мес., а безрецидивной – 1 мес относительно контрольной подгруппы оперативных вмешательств, проведенных в белом свете [133].

Неврологические исходы пациентов со злокачественными глиомами, оперированными с применением метаболической навигации

При сравнительном анализе послеоперационного неврологического дефицита было показано, что он встречается у 24% в группе 5-АЛК против 15% в группе пациентов, оперированных в белом свете. Однако, на 7 сутки, через 6 недель и 6 месяцев в частоте неврологического ухудшения между 2 подгруппами не отмечалось значимых отличий [282]. При анализе гемипарезов после моторной стимуляции у пациентов с глиомами головного мозга в нашей группе с использованием 5-АЛК было выявлено 124 пациента (в данной выборке использованы только наблюдения с обязательным применением флуоресценции и фиксацией данных нейрофизиолога в дополнительном протоколе нейрофизиологической группы в периоде с 2016 по 2018гг). Из них у 28 пациентов (22,6%) были выявлены моторные зоны (5 – моторная кора и 23 – волокна пирамидного тракта). У остальных 96 пациентов моторные зоны при операциях с ФД не найдены. При анализе послеоперационных гемипарезов его нарастание отмечено в 13 (10,5%) случаях в наблюдаемой группе, стойкий гемипарез отмечался у 8 (6,5%) пациентов. Мы считаем, что на невысокий процент неврологических дефицитов в послеоперационном периоде может быть связан в

том числе с преобладанием в нашей группе глиом, локализованных вне ФЗЗ.

При анализе динамики речевых нарушений из 40 пациентов с глиомами доминантного по речи полушария, оперированными с применением метаболической навигации и краниотомии в сознании, у 25 пациентов в раннем послеоперационном периоде (первые 7 суток) отмечалось нарастание афатических нарушений (62,5%), из них у 11 из 12 пациентов с картированными волокнами длинных ассоциативных трактов (преимущественно, аркуатного пучка и лобного косоного пучков) отмечены нарушения речи в первые 7 суток после оперативных вмешательств (91,6%). У подавляющего числа пациентов данные нарушения являются транзиторными и регрессируют в течении 3 месяцев после операции, что соответствует данным мировой литературы [113].

Метаболическая навигация в хирургии интракраниальных менингиом

Чувствительность и специфичность флуоресценции, а также показания к ее применению в хирургии интракраниальных менингиом, остаются предметом исследований различных авторов [93]. Впервые флуоресцентную навигацию при удалении менингиомы с высоким риском рецидива применили Y. Kajimoto и соавт. [162] в 2007 г., описав 24 случая супратенториальных интракраниальных менингиом, 20 из которых флуоресцировали. Чувствительность и специфичность флуоресценции, а также показания к ее применению в хирургии интракраниальных менингиом, остаются предметом исследований [93]. Вместе с тем хорошо известно, что такие факторы, как радикальность удаления менингиом по шкале Simpson, наличие инвазии в венозные синусы, гистологический тип и степень злокачественности по классификации ВОЗ опухоли существенно влияют на частоту рецидивов и продолжительность жизни пациентов после оперативного вмешательства. Так, согласно T. Winther [309], частота рецидивов в течение 5 лет после оперативного вмешательства у пациентов с менингиомой Grade I при I типе радикальности удаления по классификации Simpson составила 2,9%, при II типе — 8,3%, при III и IV типах — 12,5 и 42,9% соответственно.

Одна из возможных причин рецидива интракраниальных менингиом — это наличие остаточных фрагментов опухоли (в ТМО, костной ткани, измененной мозговой ткани, крупных венозных синусах, артериальных и венозных сосудах, оболочках черепных нервов, прилежащей паутинной оболочке), которые не были обнаружены во время операции или их удаление, было сопряжено с риском интраоперационных и послеоперационных осложнений [68]. Это особенно актуально для менингиом, инфильтрирующих оболочки и кору мозга [93].

По данным последнего метаанализа, посвященного флуоресцентной диагностике в хирургии интракраниальных менингиом, менингиомы являются хорошо флуоресцирующими опухолями, с яркой гомогенной флуоресценцией, при этом Grade опухоли, ее пролиферативная и митотическая активность не связаны с флуоресценцией [296]. Является дискуссионным вопрос о целесообразности применения метаболической навигации в хирургии интракраниальных менингиом с целью визуализации инфильтрации ТМО (т.н. дуральных «хвостов»), поражения подлежащей коры и арахноидальной оболочки, а также костных структур и мелких узлов опухоли при менигеоматозе [296].

Кроме того, некоторыми авторами [93] показано, что интенсивность флуоресценции менингиом зависит от степени их злокачественности, а чувствительность метаболической навигации при данном типе опухолей колеблется от 77% до 91% [202].

Последующие публикации серий наблюдений были включены N. Foster et al. [164] в метаанализ, обобщающий результаты применения интраоперационной ФД у 206 пациентов с менингиомами различной локализации. Данный метаанализ показал, что чувствительность метода ФД составила 95% (95% ДИ 91,8—97,7). В нашей работе в метаанализ были включены последние крупные серии публикаций S. Marbacher и соавт. [202] и M. Millesi и соавт. [214], а также собственные наблюдения, что позволило собрать воедино данные 581 пациента с менингиомами различной локализации. Согласно этому метаанализу, чувствительность ФД в хирургии интракраниальных менингиом составила 89,2%, причем обобщенный показатель отношения шансов флуоресценции менингиом в группе Grade I и Grade

II—III составил 1,14 (95% ДИ 0,59—2,19), в результате чего не были подтверждены различия в частоте флуоресценции менингиом разной степени злокачественности. В работе J. Cornelius и соавт. [93] была выявлена статистически значимая зависимость флуоресцентного эффекта от степени злокачественности менингиом на небольшой группе ($n=31$) наблюдений.

Данные литературы и собственных наблюдений показывают, что интракраниальные менингиомы являются хорошо флуоресцирующими опухолями [296]. В нашей серии наблюдений флуоресценция наблюдалась у 95 (94,1%) из 101 пациента с интракраниальными менингиомами, причем только у 12 (11,9%) из них отмечалось слабое свечение. Слабая флуоресценция (8,3%) обнаружена также в последней серии [214].

Для выяснения причин отсутствия или слабого эффекта флуоресценции мы провели анализ влияния на эффект флуоресценции различных факторов. Как показал анализ, такие факторы, как пол, возраст, локализация (конвекситальная/краниобазальная), гистологический подтип опухоли (менинготелиоматозная/фибропластическая) и ее Grade (I—III), прием противосудорожных препаратов и дексаметазона, заболевания ЖКТ и наличие СД не оказывали влияния на флуоресцентный эффект (ни на его наличие или отсутствие, ни на степень выраженности). При отдельном анализе подгрупп сильной и средней степени флуоресценции (83 пациента) и слабой или отсутствующей флуоресценции (18) получены аналогичные результаты.

Анализ взаимосвязи между приемом дексаметазона и флуоресцентным эффектом у пациентов с интракраниальными менингиомами был проведен ранее только в работе D. Coluccia и соавт. [87] у 33 пациентов, при этом не было выявлено достоверной связи между данными факторами, что согласуется с нашими результатами.

По данным M. Nefti и соавт. [145], фенитоин может ослаблять флуоресцентный эффект в культуре клеток злокачественных глиом. J. Lawrence и соавт. [185] показали, что дексаметазон (как сам по себе, так и в сочетании с фенитоином и вальпроатами) снижает накопление ПП IX в клетках культуры

глиомы. Это послужило основанием для изучения влияния противосудорожных препаратов на флуоресцирующий эффект в нашей когорте пациентов с менингиомами. В результате было установлено, что в группе пациентов, принимающих противосудорожные препараты, флуоресценция наблюдалась несколько чаще, но статистически недостоверно ($p=0,058$). Эти данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований влияния конкретных противосудорожных препаратов (в том числе в сочетании с дексаметазоном) на вероятность и интенсивность флуоресценции менингиом.

В отдельных публикациях отмечены сравнительно низкие показатели флуоресценции менингиом (в 85 (77%) из 110 наблюдений Marbacher [202] и в 12 (80%) из 15 наблюдений Potarov. Причиной разного флуоресцирующего эффекта или его отсутствия в менингиомах, помимо указанных выше причин, может быть изменение активности внутриклеточного фермента феррохелатазы, конвертирующий флуоресцирующий ПП IX в нефлуоресцирующий гем [145], а также некоторые генетические особенности, как, например, потеря гетерозиготности гена на хромосоме 22 или активация теломеразы [92].

Следует отметить, что в нашей серии у 40 (39,6%) пациентов во время операции отмечалось умеренное или интенсивное кровотечение. При анализе влияния данного фактора на флуоресцентный эффект выявлена статистически значимая связь между кровотечением и интенсивностью флуоресценции. Эти данные показывают, что во время удаления хорошо кровоснабжаемой опухоли не следует переключать микроскоп на флуоресцентный режим, поскольку это усложняет работу хирурга и обеспечение гемостаза, а также уменьшает степень флуоресценции. Поэтому переключение микроскопа на флуоресцентный режим целесообразно только после восстановления гемостаза. Для уточнения взаимосвязи степени кровоснабжения опухоли и ее флуоресценции необходимо проведение специального исследования для сопоставления данных КТ- или МР-перфузии опухоли и ее флуоресценции.

В 2011 г. было описано первое использование лазерной спектроскопии при удалении менингиомы основания черепа [58]. В работе выявлена значимую

корреляцию между выраженностью флуоресценции, оцениваемой хирургом с помощью операционного микроскопа, и показателями лазерной спектроскопии, установленной нами ранее в первой серии наблюдений. В работе J. Knipps и соавт. были изучены 104 биоптата из 13 менингиом, флуоресценция которых оценивалась с помощью микроскопа, а также миниспектрометра *ex vivo*. Исследования показали, что чувствительность и специфичность метода с применением микроскопа составили 96 и 53%, а с применением миниспектрометра — 95 и 93% соответственно [174]. В небольших сериях других авторов [186; 262] имеются сходные данные о высокой чувствительности метода лазерной спектроскопии в хирургии менингиом.

По нашему мнению, количественная биоспектроскопия может быть полезной в тех ситуациях, когда хирург не располагает микроскопом или эндоскопом с соответствующими фильтрами для ФД либо требуется количественная верификация слабого флуоресцирующего эффекта подлежащей мозговой ткани, оболочек мозга, стенок крупных венозных синусов и измененной кости. По нашим данным у 5 пациентов в солидной части опухоли с помощью спектроскопии выявлено накопление протопорфиринов невидимое через окуляры микроскопа, а в 12 случаях – спектры были повышены за пределами основного опухолевого узла (в ТМО, кости, адвентиции сосудов).

По мнению ряда авторов [162; 214; 305] ФД эффективна в хирургии менингиом основания черепа, при высоком риске рецидива опухоли, инфильтрации сосудов и подлежащей кости. Вместе с тем известно, что наличие гиперостоза не всегда означает инвазию кости опухолью поскольку в зоне гиперостоза опухолевые клетки выявляются только в 20-30% случаев [40]. A. Della Rurra и соавт. [106] в серии из 12 пациентов с интракраниальными менингиомами (10 из которых были с гиперостозом) выполнили анализ 98 костных биопсий из светящихся и несветящихся участков кости. В результате работы было установлено, что чувствительность и специфичность 5-АЛК в выявлении инвазии кости опухолевыми клетками в хирургии интракраниальных менингиом составляют 89 и 100% соответственно. Вероятно, степень флуоресценции может

зависеть от количества опухолевых клеток в единице объема ткани. Интересно отметить, что, по данным этого же автора, может наблюдаться свечение кости без признаков гиперостоза, что указывает на ее опухолевое поражение. В связи с этим актуальным является вопрос о детекции опухолевых клеток в зонах гиперостоза при интракраниальных менингиомах. По нашим данным, частота свечения гиперостозов существенно меньше, чем солидной части опухоли, и составляет 42,3%. Ниже представлены различные варианты сочетания гиперостозов, флуоресценции и патоморфологических данных при инвазии кости менингиомой (Таблица 57).

Таблица 57 - Некоторые варианты соотношения гиперостозов, свечения и наличия опухолевых клеток при интракраниальных менингиомах

Свечение	Гиперостоз	Гистология	Примечания
Флуоресценция (+)	Гиперостоз в зоне свечения (+)	Опухоль выявлена в кости (+)	Наиболее частый вариант [214]
Флуоресценция (+)	Гиперостоз отсутствует (-)	Опухоль выявлена в кости (+)	Встречается реже
Флуоресценция отсутствует (-)	Гиперостоз вне зоны свечения (+)	Опухоль выявлена в кости (+)	Встречается реже (13%) [105]
Флуоресценция отсутствует (-)	Гиперостоз вне зоны свечения (+)	Опухолевые клетки отсутствуют (-)	Встречается реже, только в 20-33% доказано наличие опухолевых клеток в зоне гиперостоза [138]

Отдельные клинические наблюдения в нашей серии показывают возможность выявления дополнительных фрагментов опухоли, поражающей

твердую и арахноидальную оболочки мозга и костные структуры у 36% пациентов. По данным последнего метаанализа Valdes [296], посвященного флуоресцентной диагностике в хирургии интракраниальных менингиом, подтверждается высокая чувствительность метаболической навигации в хирургии интракраниальных менингиом (77-96%), а также подчеркивается польза метода для выявления: 1) сателлитных узлов, расположенных на расстоянии до 3 см. от основной массы опухоли, 2) инвазии опухолью подлежащей коры и арахноидальной оболочки. В тоже время, остается противоречивой чувствительность метаболической навигации для выявления пораженной твердой мозговой оболочки (так называемых дуральных «хвостов»). По данным Kajimoto и соавт., сообщалось о видимой флуоресценции зон поражения ТМО в 6/8 (75%) случаев (2007), при этом морфологическое подтверждение прорастания оболочки было выявлено только у 5 из 6 пациентов [162]. В тоже время, Millesi et al. не наблюдал видимой флуоресценции ни в одном из анализируемых случаев поражения ТМО (89 наблюдений) [214]. Таким образом, самая большая серия в литературе на сегодняшний день свидетельствует о том, что интраоперационная метаболическая навигация не показывает свечения пораженной ТМО. В тоже время, в одном из приведенных выше клинических примеров в нашей работе визуализируется яркое свечение ТМО, пораженной опухолью, при этом всего данный феномен с учетом спектроскопии, был выявлен в 10 наблюдениях в нашей серии.

В нашей работе при анализе отдельных клинических наблюдений было установлено, что после удаления основного узла включение флуоресцентного режима позволило идентифицировать мелкие остаточные фрагменты опухоли, что согласуется с данными E. Wilbers и соавт. [308]. По нашему мнению, выявление мелких остаточных опухолевых фрагментов в оболочках мозга, черепных нервов, в ложе удаленной опухоли, подлежащей кости после переключения микроскопа на флуоресцентный режим, может объяснять причины локальных рецидивов доброкачественных менингиом (Grade I) даже при условии их радикального удаления [309]. Следует отметить, что градация степени радикальности удаления менингиом, предложенная в 1957 г. D. Simpson [273], была основана на опыте

автора, накопленном в период с 1938 по 1954 г., а также серий Cairnes (1928—1938), H. Cushing [1938] и H. Olivercrona [232], когда применялась макроскопическая оценка степени радикальности операций [273]. Использование современных методов нейровизуализации и нейрохирургических технологий (микроскоп, эндоскоп, ФД, биоспектроскопия и др.) требует нового подхода к оценке степени радикальности удаления менингиом и понимания причин их рецидивирования.

Метаболическая навигация в хирургии интракраниальных метастазов

Первая в мире публикация о применении 5-АЛК для фотодинамической диагностики метастатической опухоли была опубликована группой японских нейрохирургов в 2007 году [221]. Пациент был оперирован в связи с метастазом гепатоцеллюлярной карциномы в затылочную долю, опухоль была ярко светящейся. Позже группа Valdes et al [295-296] сообщили результаты применения метаболической навигации у 14 пациентов с опухолями головного мозга различной гистологической структуры, включая метастазы. В это же время Schucht и соавт. описали парадоксальную флуоресценцию у пациента с метастазом меланомы в головной мозг [267].

Рациональность использования интраоперационной флуоресцентной диагностики в хирургии интракраниальных метастазов остается дискуссионной, что связано с большим разбросом чувствительности и специфичности данного метода в определении злокачественных клеток в работах различных авторов. Так по данным S. Utsuki [294], чувствительность ФД при метастазах составила 82%, в тоже время, по данным R. Yagi [313] – 33%. Максимальное количество наблюдений проанализировано Kamp et al. (84 человека), при этом чувствительность ФД составила 40,5% [164-166]. В настоящее время данной командой проанализирована общая и безрецидивная выживаемость в зависимости от факта свечения опухоли в серии, включающей 218 пациентов с интракраниальными метастазами [164-166].

Согласно данным Kamp, средняя чувствительность метода интраоперационной флуоресцентной диагностики, по данным разных авторов,

составила 66,6% (от 0% до 100%). Большое количество пациентов было проанализировано (n=65) в выборке проф. Marbacher (2014) со средней чувствительностью 52% [202]. Данные остальных авторов составляли от 1 до 11 пациентов [164-166]. Оценка специфичности не проводилась ввиду недостатка исходных данных, однако по предварительным оценкам оказалась невысокой и не превышала 30% (Таблица 58).

Таким образом, при анализе литературы было отмечено, что чувствительность ФД в хирургии интракраниальных метастазов значительно варьирует. Вероятно, это связано со значительным числом случаев слабой флуоресценции интракраниальных метастазов (по нашим данным – 22%).

Таблица 58 - Данные литературы о применении метаболической навигации в хирургии интракраниальных метастазов

Автор	Год	Число пациентов	Чувствительность
Utsuki [294]	2007	11	81,8%
Hefti [145]	2008	2	100%
Valdes [295]	2011	3	50%
Куржупов [21]	2011	34	91,1%
Schucht [267]	2011	1	0%
Kamp [164-166]	2012	52	61,5%
Widhalm [307]	2012	4	50%
Suero Molina [287]	2013	7	100%
Eljamel [120]	2013	5	100%
Marbacher [202]	2014	65	52%
Belloch [61]	2014	3	33,3%
Piquer [246]	2014	3	100%
Coburger [84]	2014	11	72,7%
Ji So Young [158]	2019	23	86,9%
Knipps [174]	2019	29	44,8%
ИТОГО:	2020	219	66,6%

В России впервые крупная серия пациентов, оперированных с 5-АЛК в хирургии интракраниальных метастазов была описана М.И. Куржуповым (2011), и

включала 34 пациента [21]. Автор применил метод как флуоресцентной диагностики с 5 АЛК, так и фотодинамической терапии. В результате исследования было показано, что разработанная методика является высокоэффективной, позволяет повысить радикальность операций на 20,45%, снизить рецидивы в зоне лечения с 35% до 5,9%.

Аласенс-индуцированный ПП IX эффективно накапливается в метастатических опухолях головного мозга, при этом практически не синтезируется в здоровых тканях головного мозга. Флуоресцентная контрастность, измеренная методом спектроскопии, опухоль/нормальная ткань головного мозга составляла от 7,5 до 70,5% [21].

Позже особенности применения метаболической навигации в хирургии данных опухолей была описана группой австрийских нейрохирургов Kamp et al. [164-166]. Данное исследование включало 52 пациента, из которых 62% были флуоропозитивными.

В целом, публикаций на данную тему в литературе значительно меньше, чем при глиальных опухолях (27 публикаций по данным Pub Med при использовании поисковых слов 5 АЛК brain metastasis на апрель 2021г). По данным разных авторов, отмечается различная чувствительность метаболической навигации в хирургии интракраниальных метастазов.

В работе [173] показана более высокая чувствительность спектроскопии в хирургии интракраниальных метастазов. Так, из 29 пациентов видимая глазом флуоресценция отмечена у 20, в то время как у 9 она отсутствовала, но благодаря спектроскопии выявлено повышение уровня накопления протопорфирина в опухоли.

Согласно нашим данным, общая чувствительность ФД в хирургии интракраниальных метастазов (солидная часть) составляет 87%. На наш взгляд, наиболее сложны для визуальной оценки случаи со слабой флуоресценцией, общее число которых составляет, по нашим данным, 22,2%. Результаты ретроспективного анализа показали, что метастазы рака легкого флуоресцируют наиболее ярко, в то время как метастазы рака молочной железы являются наименее

яркими. Возможным объяснением статистически достоверной разницы в интенсивности флуоресценции метастазов рака легкого и молочной железы является различная степень злокачественности клеток данных опухолей, которая коррелирует с их различной биохимической активностью. Известно, что выживаемость пациентов с интракраниальными метастазами рака легкого достоверно меньше, чем пациентов с метастазами рака молочной железы и составляет от 3 до 14,8 месяцев в первой группе и от 3,4 до 25,8 месяцев во второй [313]. Рак молочной железы склонен к более позднему метастазированию в головной мозг, а рост метастатических очагов рака молочной железы чаще медленнее, чем очагов из группы рака легкого [12].

В более позднюю серию Камп [164-166] включено 218 пациентов с церебральными метастазами и оценена общая и безрецидивная выживаемость по отношению к факту свечения опухоли во время операции. В результате исследования было установлено, что флуоропозитивные и флуоронегативные метастазы показали различную выживаемость без прогрессирования ($p = 0,01$) и общую выживаемость (20 и 14 месяцев соответственно; $p = 0,006$).

В нашей работе статистически значимых отличий в общей и безрецидивной выживаемости пациентов обнаружено не было, однако имелся тренд в сторону меньшей общей выживаемости и более раннего наступления рецидивов у пациентов, у которых во время операции регистрировалась яркая или умеренная видимая флуоресценция удаляемых очагов. Возможным объяснением является значительное преобладание в данной группе пациентов с метастазами рака легкого, а в группе с отсутствием или слабой видимой флуоресценции – пациентов с метастазами рака молочной железы. Пациенты с метастазами рака легкого имеют доказано меньшую общую выживаемость [12] за счет более агрессивного течения рака легкого по сравнению с раком молочной железы.

Кровотечение заметно ухудшает интенсивность флуоресценции, но не влияет на ее наличие. При анализе общей и безрецидивной выживаемости, по нашим данным, отмечалась тенденция к ее снижению при более ярко флуоресцирующих очагах, что не согласуется с данными Камп и соавт [164-466]. Наличие

кровотечения уменьшает яркость флуоресценции в связи с ослаблением проникновения света сквозь кровь, излившуюся в рану, ввиду её высокой оптической плотности. Анализ с помощью метода парных корреляций продемонстрировал, что интраоперационно кровотечение наблюдается чаще при большем размере опухоли, что, скорее всего, связано с более развитой сосудистой сетью опухоли и более активным ангиогенезом. Аналогичная закономерность была выявлена в хирургии интракраниальных менингиом.

В данном исследовании гистологическая структура (аденокарцинома/светлоклеточный рак/меланома/низкодифференцированный рак/крупноклеточный рак/мелкоклеточный рак) опухоли не влияла на характеристики видимой флуоресценции, что совпадает с результатами, полученными в работе М. Камп [164-166].

Прием дексаметазона, согласно данным Р. Grabb и W. Stummer [282], может приводить к уменьшению эффекта видимой флуоресценции, однако в нашей работе статистических различий между группами пациентов с наличием и отсутствием приема дексаметазона до операции и корреляции между дозой дексаметазона и интенсивностью флуоресценции выявить не удалось.

Прием противосудорожных препаратов до операции теоретически может повлиять на характеристики видимой флуоресценции. Согласно работе М. Nefti [145] фенитоин способен блокировать ферменты биосинтеза гема *in vitro* в клетках злокачественных глиом. В данном исследовании прием пациентами противосудорожных препаратов не влиял на наличие и интенсивность видимой флуоресценции, однако следует отметить, что фенитоин в качестве лечения симптоматической эпилепсии пациентами из нашей серии не использовался. Ранее была выявлена значимая закономерность влияния приема противосудорожных препаратов на флуоресцентный эффект в хирургии глиом низкой степени злокачественности [202].

В литературе в экспериментах на животных было показано, что введение маннитола способствует увеличению интенсивности флуоресценции интактного мозга ввиду нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для 5-

АЛК. В нашей работе интраоперационное введение 200 мл 15% раствора маннитола или 250 мл гипертонического раствора гидроксипропилкрахмала не влияло на интенсивность эффекта видимой флуоресценции, что может быть связано различными дозировками и несколько отличным влиянием данных средств на проницаемость гематоэнцефалического барьера у людей и животных.

В нашей работе сроки с момента радиохирургического лечения достоверно влияли на флуоресцентный эффект, при этом чем больше времени прошло с момента радиохирургического воздействия до оперативного вмешательства, тем более интенсивно флуоресцировала опухоль. В литературе подобного сравнения нами обнаружено не было. Возможно, для уточнения влияния радиохирургического вмешательства на видимую флуоресценцию требуются дополнительные исследования. Вероятно, усиление свечения после облучения опухоли связано с постлучевыми изменениями, которые индуцируют макрофагальную инфильтрацию зоны облучения и неспецифическое свечение. Ранее флуоресценция зоны послелучевых изменений была показана в ряде работ у пациентов с рецидивами злокачественных глиом [226].

Флуоресценция в ложе удаленных глиом и метастазов

В литературе основное внимание уделяется анализу объемов резекции контрастируемой части глиобластом и его влиянию на выживаемость. При этом неконтрастируемая часть глиобластом часто остается за пределами поля зрения нейрохирурга, а основная тактика хирургического лечения глиом высокой степени злокачественности концентрируется исключительно на контрастирующейся зоне опухоли. В тоже время, неконтрастирующаяся часть HGG может быть связана не только с отеком, но и с опухолевой инфильтрацией. Рядом авторов показано, что степень инвазии глиобластом, по данным посмертных исследований, варьируется и 20-27% опухолей имеют инфильтрацию менее 1 см от края основного узла, 20% - более 3 см., и 8% имеют выраженную диссеминацию за пределы опухоли [72; 239; 263]. Применение метаболической навигации в хирургии глиом высокой степени злокачественности имеет важнейшее преимущество – возможность

визуализации неконтрастирующейся части опухоли за пределами зоны контрастирования, поскольку границы флуоресценции превышают границы зоны контрастирования [150].

По нашим данным, в ложе удаленных глиом высокой степени злокачественности при визуальном тотальном удалении опухоли в белом свете может не визуализироваться инфильтративная часть опухоли (до 66% случаев). Однако, при использовании ФД с 5-АЛК при наличии в ложе удаленной глиомы яркого свечения в 85% случаев в нем выявляются опухолевые клетки. Это позволяет считать метаболическую навигацию высокоэффективным методом выявления инфильтративной части глиом высокой степени злокачественности, скрытых от нейрохирурга при операции только в белом поле. Анапластическая трансформация происходит, как правило, в зоне измененного сигнала по данным МРТ в режиме T2-FLAIR, что еще раз подчеркивает важность прицельного изучения неконтрастируемой части глиом любой степени злокачественности [41].

Остается до конца неясным феномен свечения ложа удаленных метастатических узлов и причины его возникновения. Это обусловлено наличием в ряде случаев опухолевой инвазии в окружающую мозговую ткань, характерной для данных опухолей. Так, по данным Shatlo [261] флуоресценция в ложе удаленных метастатических узлов является надежным маркером опухолевой инфильтрации. Низкую специфичность видимой флуоресценции можно объяснить накоплением ПП IX в отечном мозге, что связано с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера и инфильтрацией тканей реактивными астроцитами и макрофагами [226]. Однако R. Yagi и соавт. [313] продемонстрировали, что глубина инвазии опухолевых клеток в ткань интактного мозга коррелирует с шириной области перифокального свечения. Инвазия злокачественных клеток наблюдалась в данной работе в 75% случаев, средняя глубина по данным гистологического исследования составила $1,4 \text{ мм} \pm 1,0 \text{ мм}$ (0,2 мм-3,4 мм). Ранее в работах Алешина В.А. и соавт. (2011) показано, что инвазия опухолевых клеток вокруг метастатического узла рака легкого может составлять до 8 мм [2]. Наличие инвазии злокачественных клеток в ткань интактного мозга и

возможное применения метода ФД с 5-АЛК требует проведения дальнейших исследований с целью уточнения условий наиболее приемлемых для использования данного метода. При изучении дополнительных биопсий из светящегося ложа удаленных метастатических узлов на небольшой выборке опухолевые клетки были выявлены только в половине случаев. По данным Камр и соавт. [164-166], опухолевые клетки в зоне свечения в ложе удаленных метастазов были выявлены только в 33,3% биоптатов.

По данным литературы, неспецифическое свечение при операциях с флуоресценцией с 5-АЛК в головном мозге описано в стенке бокового желудочка, при демиелинизирующих, воспалительных заболеваниях, зонах постлучевых реакций [216; 217]. Ниже приведены примеры неспецифического свечения в эпандиме боковых желудочков и у пациента с абсцессом головного мозга.

Клиническое наблюдение 37

Ж., 63 лет. Продолженный рост глиобластомы левой височной доли (Рисунок 116).

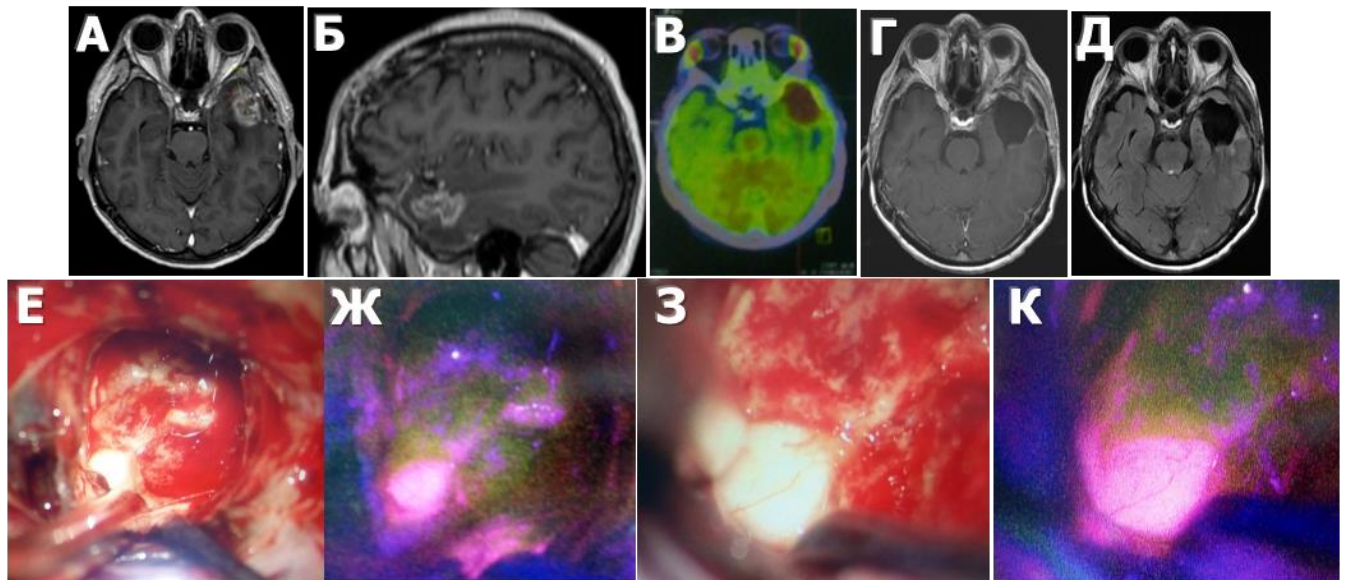


Рисунок 116 - Ж., 63 лет, клиническое наблюдение 37. Неспецифическое свечение эпендимы бокового желудочка после удаления глиобластомы в полюсе левой височной доли с продолженным ростом. А: МРТ в T1 режиме с контрастированием до операции, аксиальный срез, Б: МРТ в T1 режиме с контрастированием до операции, сагиттальный срез; В: ПЭТ КТ головного мозга с метионином, регистрируется индекс накопления 3,1. Г: МРТ после операции в T1 режиме аксиальный срез с контрастом, Д: МРТ после операции, аксиальный срез в T2 FLAIR режиме. Последовательно представлены интраоперационные фотографии в белом и синем свете во время резекции Е: визуализируется интактная в белом свете и флуоресцирующая в режиме BLUE 400 (Ж) эпендима височного рога гомолатерального бокового желудочка. З – эпендима бокового желудочка (нижний рог), под увеличением микроскопа в белом свете, К - эпендима бокового желудочка (нижний рог), под увеличением микроскопа во флуоресцентном режиме, отчетливое яркое свечение. Дополнительная биопсия не бралась.

Яркая флуоресценция стенки бокового желудочка у пациентки с продолженным ростом глиобластомы левой височной доли. Вверху – МРТ до операции, ниже – ПЭТ с метионином, индекс накопления составил 3.1, ниже – яркая флуоресценция эпендимы нижнего рога гомолатерального бокового желудочка, вид в белом и синем свете, МРТ после операции.

Клиническое наблюдение 38

Ж., 67 лет. Флуоресценция эпендимы бокового желудочка у пациента с глиобластомой теменно-височной области слева (Рисунок 117).

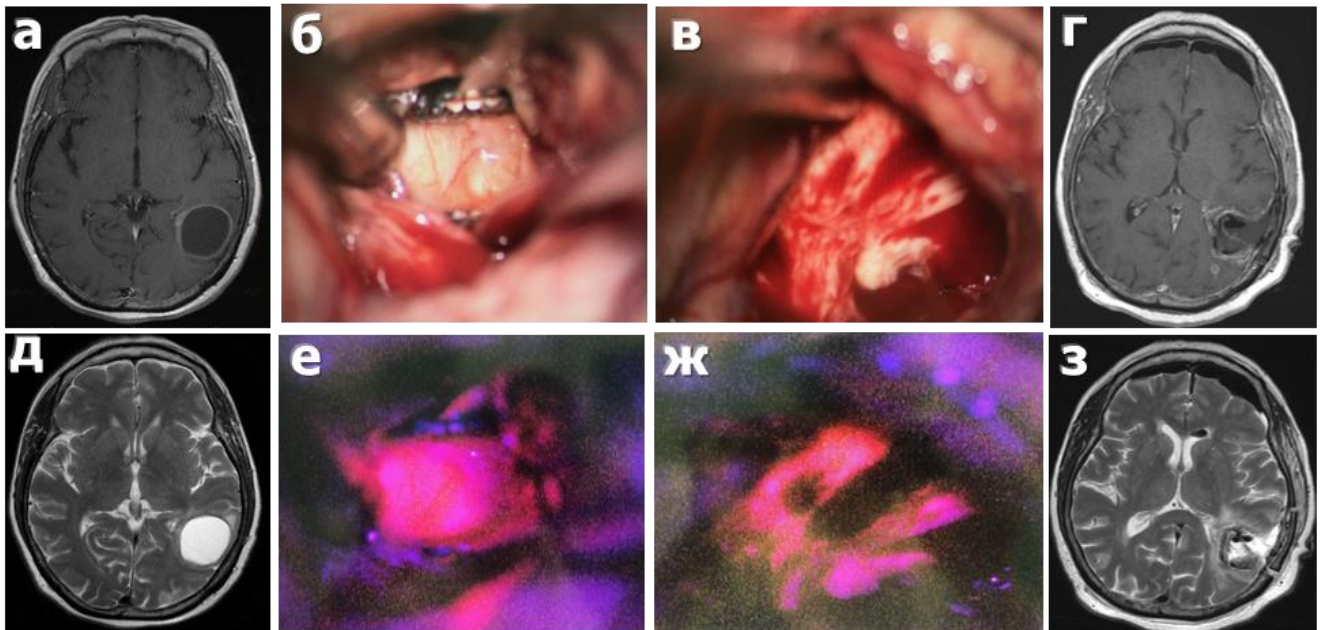


Рисунок 117 - Ж., 67 лет, клиническое наблюдение 38. Флуоресценция у пациента с глиобластомой левой теменно-височной области. А) МРТ аксиальный срез с контрастом до операции в T1 режиме, б) вскрытие просвета бокового желудочка, вид раны с эпендимой желудочка в белом свете, е) - вскрытие просвета бокового желудочка, вид раны с эпендимой желудочка во флуоресцентном режиме, в) проверка полноты резекции перед финальным гемостазом, вид передней стенки полости, в ране визуально мозговая ткань, ж) проверка полноты резекции перед финальным гемостазом, вид передней стенки полости, несмотря на неизмененную мозговую ткань в белом свете, во флуоресцентном режиме отмечается яркое свечение данной зоны, г) МРТ после операции, аксиальный срез с контрастом в T1 режиме, з) МРТ после операции, аксиальный срез в T2 режиме.

В ходе резекции опухоли отмечалось вскрытие просвета гомолатерального бокового желудочка с яркой флуоресценцией эпендимы, опухолевых клеток в биоптате нет. При исследовании флуоресценции стенок полости после основного этапа резекции в белом свете отмечалось наличие неизменной мозговой ткани, в то время как во флуоресцентном режиме данная ткань ярко светилась, резекция была продолжена до розового свечения. Полное удаление флуоресцирующей зоны опухоли, превышающей контрастную зону на МРТ, было опасно ввиду риска развития грудной афазии.

Клиническое наблюдение 39

М., 29 лет, неспецифическая флуоресценция абсцесса головного мозга. Дифференциальный диагноз между внутримозговой опухолью и абсцессом головного мозга. Пациент оперирован по экстренным показаниям в связи с быстро развившимся дислокационным синдромом с угнетением уровня сознания. Во время оперативного вмешательства визуализируется интенсивная флуоресценция содержимого абсцесса (Рисунок 118).

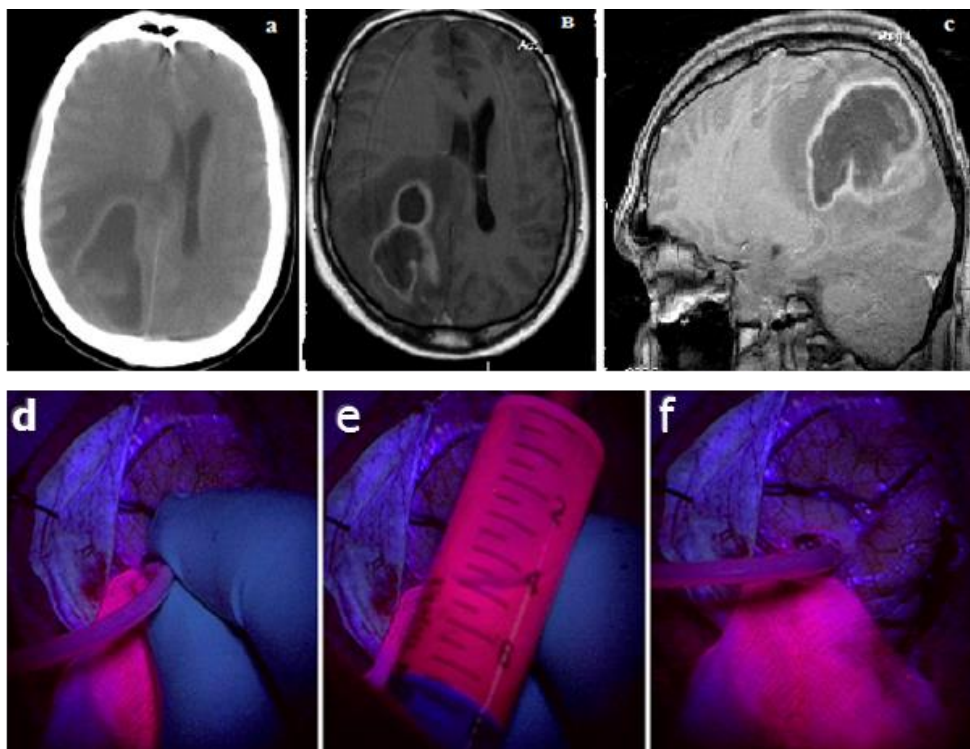


Рисунок 118 - М., 29 лет, клиническое наблюдение 39. Неспецифическая флуоресценция содержимого абсцесса головного мозга. Яркое свечение содержимого абсцесса: предоперационная СКТ, аксиальный срез (а); МРТ с контрастным усилением в Т1 режиме, аксиальный срез (в); МРТ с контрастным усилением в Т1 режиме, сагиттальный срез (с). Интраоперационная флуоресцентная диагностика в хирургии абсцесса головного мозга: установка катетера в полость абсцесса (d); флуоресценция содержимого абсцесса (е); флуоресценция поверхности салфетки с содержимым абсцесса, в полости абсцесса установлен дренаж (f)

В литературе описаны случаи ложно-положительной флуоресценции в хирургии глиом. В частности, Nabavi показал, что в хирургии злокачественных глиом с продолженным ростом видимая флуоресценция совпадает с результатами биопсии (опухолевая ткань) в 96,6% случаев [226].

При исследовании 354 биоптатов, взятых в местах с положительной видимой флуоресценцией от 36 пациентов с глиомами Grade III-IV WHO авторы выявили ложно-положительные биоптаты (наличие видимого свечения при отсутствии в биоптатах опухолевых клеток) только в 12 случаях или в 3,4% [226]. Ложно-положительные результаты флуоресценции в неопухолевой ткани могут отмечаться в результате инфильтрации реактивными астроцитами и макрофагами [294], а также проникновением препарата в зону перитуморозного отека [282]. Кроме этого низкую специфичность видимой флуоресценции можно объяснить накоплением ПП IX в отечном мозге, что связано с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера [287]. В тоже время R. Yagi и соавторы [313] продемонстрировали, что глубина инвазии опухолевых клеток в ткань интактного мозга коррелирует с шириной области перифокального свечения.

Вопрос о дополнительной резекции флуоресцирующей ткани (так называемая «супрамаргинальная» резекция) в ложе удаленных интракраниальных метастазов продолжает оставаться открытым. С одной стороны, примерно в половине случаев в зоне свечения имеются опухолевые клетки, инфильтрирующие мозговую ткань из основного узла. С другой стороны, данная зона может быть функционально значимой, что лимитирует хирурга. По видимому, вопрос о дополнительных резекциях перифокальной зоны в хирургии интракраниальных метастазов с использованием метаболической навигации должен решаться индивидуально у каждого пациента с учетом результатов срочной биопсии и функциональной значимости зоны операции, что подтверждается данными других авторов [164-166].

Согласно данным нашего исследования, при принятии решения о супрамаргинальной резекции с включением в зону удаления флуоресцирующего ложа данные манипуляции могли быть выполнены при локализации

флуоресцирующего ложа за пределами ФЗЗ у 12 пациентов. Однако, из них опухолевые клетки имелись в биоптатах только у 8 пациентов – этим пациентам выполнена супратотальная резекция флуоресцирующего ложа до редукции видимой флуоресценции. Ввиду отсутствия вблизи данных участков моторных и речевых зон нарастания очаговой неврологической симптоматики у данных пациентов не выявлено.

Использование спектроскопии может иметь преимущества при нефлуоресцирующих метастазах, когда видимая флуоресценция отсутствует. Около 50% визуально нефлуоресцирующих метастазов имеют накопление протопорфирина, регистрируемое спектроскопией [174]. По нашим данным в 6 наблюдениях при использовании лазерной спектроскопии удалось выявить накопление протопорфирина при отсутствии видимого свечения узлов интракраниальных метастазов. Таким образом, с учетом 5 нефлуоресцирующих в микроскопе менингиом общее количество наблюдений, при которых лазерная спектроскопия выявила накопление протопорфиринов, составило 11/46 (23,9%) случаев проведенной спектроскопии.

Применение спектроскопических технологий при операциях с флуоресценцией на головном мозге

В хирургии интракраниальных метастазов показатели флуоресценции, оцениваемые визуально хирургом с помощью операционного микроскопа значимо связаны с количественными показателями аккумуляции протопорфирина, оцененного с помощью лазерной спектроскопии. Это совпадает с данными других авторов [173]. Эти данные совпадают с аналогичными измерениями, полученными в хирургии интракраниальных менингиом. Применение спектроскопии у части пациентов с отсутствием видимой флуоресценции позволяет детектировать накопление протопорфирина IX в опухоли в малых концентрациях, невидимые в окуляры микроскопа. Показатели накопления протопорфиринов в интракраниальных менингиомах были значимо выше, чем в метастазах (9,39 у.е. - 121,93 у.е., в среднем 39,92 у.е. при менингиомах против 6 у.е. - 42 у.е. , в среднем

22 у.е. при метастазах ($p < 0.05$). Совместно с Институтом общей физики им. А.М. Прохорова РАН в данное время выполняется работа по созданию новых нейрохирургических инструментов, интегрированных со спектроскопическими волокнами, в частности, аспиратора, канюли для СТБ (**патент на промышленный образец № 115776** Лощенов В.Б., Савельева Т.А., Потапов А.А., Горяйнов С.А. «Наконечник нейрохирургического аспиратора с встроенными каналами для спектрального, видео и электрофизиологического контроля с функцией шпателя» и **патент на полезную модель № 183278** Лощенов В.Б., Потапов А.А., Горяйнов С.А. «Устройства для нейрохирургической аспирации со спектроскопическим и электрофизиологическим контролем»).

Применение клеточных культур для фундаментального изучения флуоресцентного эффекта в нейроонкологии

Принцип метода флуоресценции заключается в селективном накоплении большого количества протопорфирина IX в клетках злокачественной опухоли в условиях избыточной концентрации 5-АЛК, при этом в клетках здорового мозга протопорфин IX накапливается в незначительных количествах или не накапливается совсем [144; 231].

В результате нашего исследования была создана клеточная модель тестирования флуоресцентного эффекта *in vitro* из клеток глиом головного мозга, полученных от пациентов с данным заболеванием во время нейрохирургических операций. Это имеет принципиальное значение, поскольку основная масса работ по экспериментальному моделированию флуоресценции выполнена на моделях животных (например, глиомы U87, U251, SNB19, U87MG, T98G) или клеточных линий, полученных не от пациентов [188].

Во вторых, флуоресцентные свойства клеточных культур глиом аналогичны таковым в самих опухолях, из которых данные культуры были получены. Это дает основание для более тщательного изучения фундаментальных основ флуоресцентного эффекта, а также тестирования в культуре препаратов-модуляторов (индукторов и ингибиторов) синтеза протопорфирина.

В третьих, выявлен важный факт накопления протопорфиринов в изначально флуоронегативной опухоли, однако с невысокой скоростью. Это дает основание предполагать, что синтез протопорфирина может происходить и в изначально флуоронегативных культурах и тканях, но с низкой кинетикой. Применительно к клинической практике это означает перспективы изменения времени приема препарата 5-АЛК пациентом перед операций (данных опубликованных исследований в доступной литературе нет), возможного дробления дозы препарата для его двухэтапного назначения, и, самое волнующее – применение возможных модуляторов флуоресцентного эффекта. Одним из возможных индукторов свечения глиом является витамин D [308].

В четвертых, в результате нашего исследования выявлено различие в содержании белка фермента СРОХ (копропорфиринооксидазы) во флуоропозитивной и флуоронегативной культурах глиобластом. Данный фермент является одним из ключевых в сложном биохимическом каскаде биосинтеза гема [90]. Таким образом, отсутствие флуоресценции в глиобластомах наблюдается достаточно редко, около 6% случаев, в то время как при анапластических глиомах – в 33% случаев, а при глиомах низкой степени злокачественности – в 52%. В связи с этим, изучение фундаментальных основ флуоресцентного эффекта в культурах глиом имеет важное значение, открывающее в будущем перспективы дальнейшего повышения чувствительности метода.

Клеточные культуры повторяют флуоресцентные свойства тканей опухолей, из которых они были получены, и позволяют изучать флуоресцентные свойства опухолей на молекулярном уровне, в частности флуоропозитивные культуры глиобластомы содержат большее количество белка фермента СРОХ (копропорфириноген оксидазы) – одного из основных ферментов каскада биосинтеза гема. В изначально флуоронегативных культурах отмечается синтез протопорфиринов, но с меньшей скоростью, таким образом, выявлены культуры глиобластом с высокой и низкой скоростью аккумуляции ПП IX. Изучение флуоресцентного эффекта в клетках культур глиом мозга человека является перспективной моделью для тестирования препаратов, модулирующих

флуоресцентный эффект (например, витамина D), а также оценки эффективности фотодинамической терапии глиом головного мозга [144; 231].

Проведенные исследования флуоресцентных свойств клеточных культур глиом мозга человека ставят новые вопросы, требующие дальнейшего изучения: 1) изменение времени приема препарата 5 АЛК пациентом перед операцией, возможно в более ранние сроки, 2) исследование витамина D как индуктора флуоресцентного эффекта, 3) поиск новых модуляторов флуоресценции, воздействующих на различные каскады биосинтеза гема (в частности, CPOX), 4) применение различных методов спектроскопии для детекции малых концентраций протопорфирина во флуоронегативных глиомах, 5) изучение воздействия фотодинамической терапии на клетки глиом *in vitro*, 6) поиск новых схем лучевой, химиотерапии и таргетного лечения глиом мозга человека в эксперименте на культурах клеток.

В настоящее время продолжают исследования новых методов оптической визуализации в нейрохирургии, таких как различные виды спектроскопии, масс-спектрометрии, оптической когерентной томографии, направленных на получение быстрой информации о структуре тканей в операционной ране.

Применение флуоресценции для навигации глубинно расположенных опухолей

В ряде случаев ФД может быть эффективна для навигации глубинно расположенных опухолевых узлов.

Клиническое наблюдение 40

М., 54 лет. Пациент с метастазами меланомы, удаление глубинного очага в области переднего рога левого бокового желудочка. В глубинных отделах левой лобной доли выявляется зона интенсивной флуоресценции, при гистологическом исследовании подтвержден диагноз метастаза меланомы. Метаболическая навигация в данном наблюдении является дополнительной методикой для визуализации опухоли в глубине операционной раны (Рисунок 119).

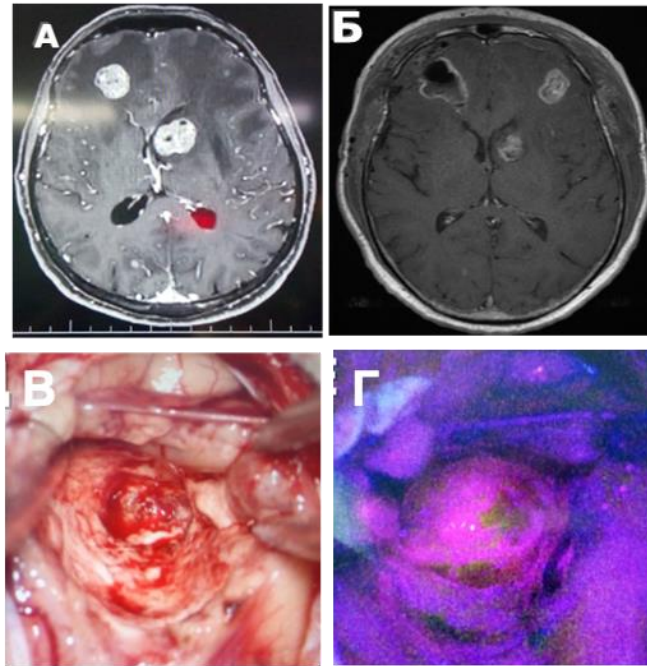


Рисунок 119 – М., 54 лет, клиническое наблюдение 40. Флуоресценция метастатического узла меланомы в глубинных отделах левой лобной доли с целью дополнительной навигации глубоко расположенного образования: А – МРТ с контрастом в аксильном срезе, T1 режим до операции; Б - МРТ с контрастом в аксильном срезе, T1 режим после операции; В – интраоперационная фотография в белом свете и Г – интраоперационная фотография во флуоресцентном режиме.

ВЫВОДЫ

1) Метаболическая навигация с применением микроскопа имеет высокую чувствительность при микрохирургических операциях (в том числе повторных) при анапластических глиомах (65% в целом, яркое свечение – 58%), глиобластомах (94% в целом, яркое свечение - 53%), интракраниальных менингиомах (94% в целом, яркое свечение – 64%). 5-АЛК имеет существенные ограничения в чувствительности при диффузных глиомах (46% в целом, яркое свечение – 27%) и метастазах в головном мозге (87% для солидной части, 52% для ложа, яркое свечение – 51%).

2) Факторы, достоверно влияющие на флуоресцентный эффект при глиомах головного мозга включают: объем контрастирующейся части опухоли (пороговое значение 37,5 см³), уровень кровотока по данным ASL перфузии (пороговое значение TBF 164,44 мл/100г/мин), метаболическая активность опухоли по данным ПЭТ с метионином до операции (более 2.2 ед), статус мутации IDH 1 (-), гистологические данные (олигоденроглиомы светились значимо чаще астроцитом), а также прием противосудорожных препаратов до операции. Частота флуоресцентного эффекта при глиомах значимо не зависела от факта повторной операции (80,9%).

3) Метаболическая навигация позволяет выявить фокусы анаплазии при резекции диффузных глиом (25,6%), при этом плотность ядер клеток и пролиферативный индекс во флуоропозитивных зонах глиом Grade II-III достоверно выше, чем во флуоронегативных (в среднем 7,41% против 2,52%). Яркая флуоресценция биоптата опухоли при СТБ является надежным предиктором информативности стереотаксической биопсии (83%).

4) При исследовании флуоресценции глиом, расположенных вблизи двигательных зон коры и пирамидного тракта, в 35% случаев выявлено полное совпадение функциональных зон и участков флуоресценции опухоли, в 24% – частичное и в 41% – совпадение отсутствовало. При локализации злокачественных

глиом вблизи речевых зон коры и длинных ассоциативных трактов у 15% пациентов отмечается наличие остаточного свечения инфильтративной части опухоли с инвазией в функционально значимые зоны и невозможностью их дальнейшей резекции.

5) При анализе послеоперационной МРТ - волюметрии при злокачественных глиомах, оперированных с 5-АЛК, частота тотальных/субтотальных резекций контрастирующейся части опухоли составляет 78%, а неконтрастируемой - только 12 %. Значимое влияние на радикальность операции в хирургии глиом с использованием метаболической навигации оказали немодифицируемые факторы такие как: локализация опухоли в лобной доле, инвазия глубинных структур, объем контрастируемой и, особенно, неконтрастируемой частей опухоли по данным дооперационной МРТ. Медиана общей выживаемости пациентов с глиобластомами, оперированными с 5-АЛК, составила 22 месяцев, медиана безрецидивного периода – 10 месяцев. Остаточная флуоресценция и степень ее выраженности не влияла на общую выживаемость пациентов со злокачественными глиомами. Стойкий неврологический дефицит в послеоперационном периоде отмечался у 10,5% пациентов.

6) Интракраниальные менингиомы имеют максимальную чувствительность при метаболической навигации среди всех опухолей головного мозга (94 % для солидной части и 42% - для гиперостозов). Яркая флуоресценция отмечалась у 64% пациентов, умеренная — 24% и слабая — у 12% пациентов. Grade опухоли, ее локализация, гистологический подтип, факт повторной операции значимо не влияли на флуоресцентный эффект. Несмотря на то, что опухоль является внемозговой и хорошо отличается в белом свете от мозговой ткани, флуоресценция позволяет выявить зоны дополнительного поражения кости, твердой мозговой, арахноидальной оболочек в 36% случаев.

7) Флуоресценция отмечается у 87% пациентов с интракраниальными метастазами, из них слабая – у 23%, умеренная – у 26%, выраженная – в 51% случаев. На степень свечения метастазов в головной мозг достоверно влияет первичный источник, время с момента радиохирургического воздействия и

наличие интраоперационного кровотечения.

8) Метаболическая навигация является высокоэффективным надежным методом выявления инфильтративной части глиом высокой степени злокачественности, скрытой при операциях только в белом свете. При наличии в ложе удаленной опухоли яркого свечения в 85% случаев в нем выявляются опухолевые клетки. Несмотря на высокую частоту свечения метастатических узлов (87%), имеется существенное ограничение в использовании метаболической навигации при данной патологии из-за частого отсутствия опухолевых клеток во флуоресцирующем ложе (48%).

9) Установлена четкая корреляция между видимой флуоресценцией опухолей в микроскопе и показателями лазерной спектроскопии при удалении интракраниальных менингиом и метастазов. Количественные показатели накопления протопорфиринов значительно выше в менингиомах (до 130 у.е.) относительно метастазов (до 40 у.е.). У пациентов с интракраниальными менингиомами и метастазами при отсутствии видимого свечения опухоли в микроскопе (вследствие кровотечения или при низком исходном уровне синтеза протопорфиринов в опухоли) отмечалось повышение уровня накопления протопорфирина по данным лазерной спектроскопии во всех случаях.

10) В результате изучения флуоресценции в культурах глиом обнаружены единичные флуоресцирующие клетки в изначально флуоресцентно-негативных клеточных культурах глиом головного мозга человека, а синтез протопорфиринов в них проходил с меньшей скоростью (пик их накопления отмечался в промежутке от 8 до 16 ч). Сравнительный уровень фермента CPOX оказался в 6 раз выше в флуоресцентно-положительных клеточных культурах, чем в флуоресцентно-отрицательных, а скорость пролиферации клеток - в 12 раз выше в клеточных культурах, полученных из образцов опухоли, проявивших интраоперационную флуоресценцию.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) Метаболическую навигацию с 5-АЛК рекомендуется использовать с микроскопом, оснащенным встроенным флуоресцентным модулем, для качественной оценки свечения через окуляры или с помощью внешних модулей. Для количественной оценки используется лазерная спектроскопия. Рекомендуемая дозировка 5-АЛК составляет 20 мг/кг *per os* за 2-4 часа до оперативного вмешательства, так как при данной дозировке побочные эффекты встречаются редко и носят легкий характер. При слабом свечении опухоли для облегчения детекции флуоресценции рекомендуется выключение света в операционной. Метаболическая навигация противопоказана при значительном повышении ферментов печени, беременности, лактации и порфирии.

2) Метаболическая навигация с применением микроскопа с флуоресцентным модулем показана при микрохирургических резекциях анапластических глиом, глиобластом и интракраниальных менингиом, в том числе при повторных операциях. Флуоресцентная диагностика имеет существенные ограничения при диффузных глиомах и интракраниальных метастазах.

3) При использовании метаболической навигации необходимо учитывать ограничения метода: флуоресценция не визуализируется под свертками крови ввиду ее высокой оптической плотности и под гемостатическим материалом; наличие слабо, негетогенно светящихся или несветящихся опухолей; флуоресценция снижается в процессе длительного и частого переключения микроскопа ввиду фотобликинга («выбеливания»); после применения биполярной коагуляции эффект свечения не виден под слоем коагуляционного струпа.

4) После вскрытия ТМО и визуализации коры головного мозга микроскоп переключается во флуоресцентный режим, что позволяет выявить распространение опухоли на кору мозга, уточнить место и размеры кортикотомии. Далее нейрохирург при удалении основной части опухоли периодически переключает белый свет микроскопа на флуоресцентный режим и обратно.

5) Перед переключением микроскопа во флуоресцентный режим

необходимо удалить из раны сгустки крови путем орошения раны физиологическим раствором, а при продолжающемся кровотечении – выполнить этапный гемостаз.

6) При микрохирургической резекции злокачественных глиом при отсутствии опухоли в белом свете микроскопа метод метаболической навигации необходимо использовать перед этапом окончательного гемостаза с целью контроля радикальности удаления неконтрастируемой части опухоли. При наличии выраженного свечения резекцию необходимо продолжить даже в случае отсутствия остатков опухоли в белом свете, при этом удаление остаточной зоны свечения в конце резекции злокачественной глиомы проводят в зависимости от функциональной значимости данной зоны.

7) При глиомах высокой степени злокачественности, локализованных в функционально значимых зонах (двигательных и речевых), применение метаболической навигации необходимо сочетать с нейофизиологическим картированием. При операциях в речевых зонах при относительно сохранной речевой функции до операции метаболическую навигацию необходимо сочетать с краниотомией в сознании. В первую очередь резекцию необходимо проводить во флуоресцирующей части глиомы, расположенной вне функционально значимых зон. При появлении речевых нарушений или моторных ответов во время резекции опухоли удаление должно быть остановлено даже при наличии остаточного свечения опухоли.

8) Метаболическую навигацию с 5-АЛК рекомендуется использовать для выявления зон анаплазии в структуре глиом Grade II-III, а при выявлении фокуса свечения глиомы следует выполнить прицельную биопсию из зоны свечения для получения биоптата с максимально высокой пролиферативной активностью и плотностью ядер клеток. При этом флуоресцирующий фокус может иметь гистологию как Grade II, так и Grade III.

9) Метаболическая навигация является полезным инструментом для проверки информативности биоптатов при заборе гистологического материала для срочной и окончательной биопсии в хирургии глиом высокой степени

злокачественности.

10) Индекс накопления, по данным ПЭТ с метионином, до операции более 2,21 ед., высокие показатели кровотока в опухоли, по данным бесконтрастной ASL перфузии (TBF 164,44 мл/100г/мин, $s=111,67$), средний объем контрастирующейся части опухоли более $37,5 \text{ см}^3$, наличие олигодендроглиомы, степень злокачественности по Grade, статус IDH 1 мутации - являются надежными предикторами свечения глиомы во время операции.

11) Применение метаболической навигации с использованием флуоресцентной лампы микроскопа показано при проведении стереотаксической биопсии злокачественных глиом и лимфом. При ярком свечении отобранный биоптат следует отдать патоморфологу для исследования, при этом в 83 % случаев в светящемся биоптате имеются опухолевые клетки (т.е. биопсия информативна).

12) Использовании метаболической навигации в хирургии интракраниальных менингиом показано для выявления остаточных фрагментов опухоли и поражения костных структур, твердой мозговой и арахноидальной оболочек.

13) В хирургии интракраниальных метастазов применение метаболической навигации ограничено высокой частотой неспецифического свечения в ложе удаленных опухолей (48%) несмотря на высокую частоту свечения солидной части опухоли (84,7%), включая метастазы рака легкого, молочной железы, почки и меланомы. Выполнение супратотальной резекции метастатических узлов обосновано при выявлении опухолевых клеток в ложе удаленной опухоли и при функциональной дозволенности.

14) Метод лазерной спектроскопии полезен при наличии крови в операционной ране, при слабом или отсутствующем свечении интракраниальных менингиом и метастазов в окулярах микроскопа. При отсутствии флуоресцентного модуля микроскопа спектроскопия может быть использована как самостоятельная методика измерения. Для удобства измерений во время операции удобно использовать двухканальный аспиратор с каналом для спектрального волокна.

15) В связи с наличием синтеза протопорфирина в флуоресцентно

негативных клетках глиом и его меньшей скоростью, требуется отдельное исследование об изменении времени приема препарата 5-АЛК перед операцией на более раннее у пациентов с неконтрастирующимися глиомами головного мозга.

16) В отдельных случаях метаболическая навигация может использоваться при удалении глубоко расположенных опухолей с целью поиска зоны интереса в глубине операционной раны.

Список литературы

1. Абсалямова О.В. Клинические рекомендации по лечению первичных опухолей центральной нервной системы/ Абсалямова О.В., Аникеева О.Ю., Голанов А.В., Кобяков Г.Л., Коновалов А.Н.// RUSSCO - 2013.
2. Алешин В.А. Церебральные метастазы рака легкого/ Алешин В.А., Карахан В.Б., Бекашев А.Х. // Журнал Опухоли головы и шеи – 2011. - № 4 - 41-47с.
3. Анохина Ю.Е. Клинико-морфологические исходы резекции злокачественных глиом головного мозга с использованием интраоперационной флуоресцентной диагностики. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук/ Анохина Ю.Е. - Санкт-Петербург, 2016.
4. Белов Д.М. Онкологические принципы хирургии церебральных метастазов рака: выбор тактики в зависимости от макроструктуры. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук/ Белов Д.М. - Москва, 2016.
5. Броун. Эпилепсия. Клиническое руководство / Броун, Холмс // Москва, Бином-2014, 280с.
6. Бржозовский А. Г. The Effects of Spaceflight Factors on the Human Plasma Proteome, Including Both Real Space Missions and Ground-Based Experiments / Бржозовский А. Г., Кононихин А. С., Пастушкова л. с., Каширина Д. Н., Индейкина М. И., Попов И.А, М. А.,Кастауд М. А., Ларина И. М., Николаев Е. Н.// INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES - 2019. - pii: E3194.
7. Бывальцев В.А. Применение флуоресцентной навигации в хирургии глиобластомы: метаанализ / Бывальцев В.А., Степанов И.А. // Сибирский онкологический журнал - 2017. - №4 - 54-64с.
8. Быканов А.А. Хирургическая анатомия периинсулярных проводящих путей / Баканов А.Е., Пицхелаури Д.И.// Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко – 2017. - №1 - 26-36с.
9. Гайтан А.С. Резекция глиобластом с применением комбинированной

флуоресцентной навигации. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Гайтан А.С. - Москва, 2015.

10. Голанов А.В. Глиобластомы больших полушарий головного мозга: результаты комбинированного лечения и факторы, влияющие на прогноз. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук/ Голанов А.В. - г. Москва, 1999 г.

11. Голанов А.В. Опыт использования ОФЭКТ/КТ в нейрохирургической клинике /Голанов А.В., Котельникова Т.М., Меликян А.Г. // Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко - 2012. – Т. 76 - №1 - 85-91с.

12. Давыдов М.И. Онкология учебник для студентов медицинских ВУЗов / Давыдов М.И. // Издательство ГЭОТАР медиа- 2019.- 920 стр.

13. Демин Д.С. Современные возможности использования МР-перфузии при оценке церебрального кровотока / Демин Д.С., Василькив Л.М., Тулупов А.А. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2015. – Т. 13 - № 4-47–56с.

14. Жуков В.Ю. Планирование хирургического доступа при удалении внутримозговых опухолей больших полушарий с использованием функциональной МРТ, навигационных систем и электрофизиологического мониторинга. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Жуков В.Ю.- Москва, 2010.

15. Качков И.А. Комбинированная терапия больных со злокачественными супратенториальными глиомами. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Качков И.А. - Москва, 1988.

16. Кобяков Г.Л. Химиотерапия в комплексном лечении больных с первичными злокачественными опухолями головного мозга. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Кобяков Г.Л. - Москва, 2012.

17. Ковалев Г.И. Применение биохимической навигации с 5 АЛК в хирургии опухолей головного мозга различных гистологических типов / Ковалев Г.И. // Технологические достижения в медицине - 2017. - № 1 - 51-58с.

18. Кобяков Г.Л. Лечение рецидива глиобластомы: есть ли успехи? / Кобяков Г.Л., Смолин А.В. // Опухоли головы и шеи – 2014. - № 3 - 12-21с.
19. Куликов А.С. Анестезиологическое обеспечение краниотомии в сознании при удалении объемных образований, прилежащих к речевым зонам головного мозга. Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Куликов А.С.- Москва, 2013.
20. Куликов А.С. Краниотомия в сознании: анализ неудачных наблюдений / Куликов А.С., Кобяков Г.Л., Гаврилов А.Г., Лубнин А.Ю. // Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко – 2015. – Т. 79 - № 6 - 15-21с.
21. Куржупов М.И. Интраоперационная флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия у больных с метастатическим поражением головного мозга. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Куржупов М.И. - Москва, 2011.
22. Лошаков В.А. Глиомы. Современные технологии и клинические исследования в нейрохирургии / В.А. Лошаков, Д.И. Пицхелаури, Г.Л. Кобяков, под ред. А.Н. Коновалова // Т. 2. – Москва, 2012 - 15-38 С.
23. Мартынов Б.В. Комбинированное хирургическое лечение глиальных новообразований головного мозга с использованием комплекса современных методов нейровизуализации в военных лечебных учреждениях. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Мартынов Б.В., - Санкт-Петербург, 2012.
24. Мартынов Б.В. Осложнения раннего послеоперационного периода рецидивных глиом головного мозга супратенториальной локализации / Мартынов Б.В., Гайдар Б.В., Парфенов В.Е., Мартынов Б.В., Свистов Д.В., Алексеева Н.П. // Нейрохирургия - 2016. - № 2 - 30-36с.
25. Папаян Г.В. Стереотаксическая флуоресцентная биоспектроскопия в диагностике глиальных новообразований головного мозга / Папаян Г.В., Мартынов Б.В., Холявин А.И. // Актуальные проблемы лазерной медицины: сборник научных трудов под редакцией проф. Н. Н. Петрищева. – СПб., 2016. – 139-151 С.
26. Поддубная И. В. Новый век – новые возможности химиотерапии:

темодал в лечении злокачественных опухолей/ Поддубная И.В. // Современная онкология - 2004. - Т. 4 - № 1 - 12–15 С.

27. Потапов А.А. Интраоперационная флуоресцентная диагностика и лазерная спектроскопия в хирургии глиальных опухолей головного мозга / Потапов А.А. // Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко - 2012. - Т. 5 – 3–12 С.

28. Прозоренко Е. В. Хирургическая тактика при церебральных метастазах с кровоизлиянием / Прозоренко Е. В., В. Б. Карахан, А. Х. Бекашев, В. А. Алешин, Д. М. Белов, Д. Р. Насхлеташвили, Н. В. Севян, А. А. Митрофанов // Опухоли головы и шеи – 2015. - Т. 5 - № 1 – 18-26с.

29. Пуцилло М.В. Нейрохирургическая Анатомия / Пуцилло М.В., Винокуров А.Г., Белов А.И. // Т. 2. (под редакцией профессора Коновалова А.Н.) - Москва: Антидор; 2007.

30. Ростовцев Д.М. Опыт интраоперационного применения отечественного препарата Фотодитазин в хирургии глиальных опухолей на базе РНХИ им. проф. А. Л. Поленова / Ростовцев Д.М., Рында А. Ю., Олюшин В. Е. // Поленовские чтения: Материалы XIII науч.-практ. конф.; Российский нейрохирургический журн. им. проф. А.Л. Поленова. –2014. — Т. 6. — Санкт-Петербург Санкт-Петербург, 2014. — С. 167.

31. Рыжова М.В. Сравнительная характеристика генетических aberrаций в глиобластомах у детей и взрослых / Рыжова М.В., Шишкина Л.В., Желудкова О.Г. // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко – 2014. – Т. 78 - № 2 - 3-11с.

32. Рында А.Ю. Фотодиагностика и фотодинамическая терапия глиом полушарий большого мозга. Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Рында А.Ю. - Санкт-Петербург, 2019.

33. Савельева Т.А. Комбинированный спектроскопический метод исследования сильнорассеивающих биологических сред. Автореферат на соискание ученой степени к.ф.м.н. / Савельева Т.А. - Москва-2013.

34. Скворцова Т.Ю. ПЭТ-диагностика астроцитарных опухолей головного мозга. Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Скворцова Т.Ю. – СПб., 2004. 23 с.

35. Суфианов А.А. Диссекция белого вещества головного мозга / Суфианов А.А., Гизатуллин М.Р., Маркин Е.С., Суфианов Р.А. // Тюмень; 2016.
36. Холявин А.И. Принципы расчетной предоперационной подготовки многоцелевого стереотаксического наведения у пациентов с глиомами головного мозга. Автореферат на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Холявин А.И. - Санкт-Петербург- 2012.
37. Щербань А.Е. Стереотаксическая биопсия опухолей головного мозга с планированием в условиях магнитно-резонансной томографии / Щербань А.Е., Иванов П.И., Черкашин М.А., Желбунова Е.А. // Регулярные выпуски РМЖ - №16 от 07.09.2017 - 1194-1199с.
38. Яшин К.С. Оптическая когерентная томография при глиальных опухолях головного мозга (клинико- экспериментальное исследование). Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Яшин К.С. – Москва, 2019.
39. Agrawal A. Josef Klingler's Models of White Matter Tracts: Influences on Neuroanatomy, Neurosurgery, and Neuroimaging / Agrawal A., Kapfhammer J.P., Kress A. // *Neurosurgery* – 2011. – Т. 69 - № 2 - 238-254с.
40. Agrawal D. Does bony hyperostosis in intracranial meningioma signify tumor invasion? A radio-pathologic study. / Agrawal D., Goyal N., Kakkar A., Sarkar C. // *Neurol India*. - 2012. – Т. 60 - № 1 – 50с.
41. Asgeir Jakola Spatial distribution of malignant transformation in patients with low-grade glioma / Asgeir Jakola, Bouget D., Reinertsen I., Skjulsvik A.J., Sagberg L.M., Bø H.K., Gulati S., Sjøvik K., Solheim O. // *J Neurooncol*. – 2020. - Jan – Т. 146 - № 2 - 373-380с.
42. Aichholzer M. Epidural metastasis of a glioblastoma after stereotactic biopsy: case report / Aichholzer M. // *Minim Invasive Neurosurg*. - 2001. - Т.44 - №3 – 175-7с.
43. Aldave G. Prognostic value of residual fluorescent tissue in glioblastoma patients after gross total resection in 5-aminolevulinic acid-guided surgery / Aldave G. // *Neurosurgery* - Т. 72 - № 6 - 915–920с.

44. Almairac F. The left inferior fronto-occipital fasciculus subserves language semantics: a multilevel lesion study / Herbet G., Moritz-Gasser S., de Champfleury N.M., Duffau H. // *Brain Struct. Funct.* – 2014. - T. 220 - № 4 - 1983-1995c.
45. Ammirati M. Reoperation in the treatment of recurrent intracranial malignant gliomas / Ammirati M., Galicich J.H., Arbit E., Liao Y. // *Neurosurgery.* - 1987. – T. 21 - № 5 -607-614c.
46. Ardila A. A review of conduction aphasia / Ardila A. // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2010 . – T. 10 - № 6 - 499–503c.
47. Arita H. ¹¹C-methionine uptake and intraoperative 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence as separate index markers of cell density in glioma: a stereotactic image-histological analysis / Arita H., Kinoshita M., Kagawa N., Fujimoto Y., Kishima H., Hashimoto N., Yoshimine T. // *Cancer.* – 2012. - Mar – T. 15 – 118- № 6 - :1619-27c.
48. Arlt F. Intraoperative 3D contrast-enhanced ultrasound (CEUS): a prospective study of 50 patients with brain tumours / Arlt F. // *Acta Neurochirurgica* – T. 158 - № 4 - 685–694c.
49. Ausermühle A. Language functional MRI and direct cortical stimulation in epilepsy preoperative planning / Cocjin J., Reynolds R., Agrawal S., Sepeta L., Gaillard W.D., Zaghloul K.A., Inati S., Theodore W.H // *Ann Neurol.* – 2017. - Apr – T. 81 - № 4 - 526-537c.
50. Axer H. Fiber anatomy of dorsal and ventral language streams / Axer H., Klingner C.M., Prescher A. // *Brain Lang.* – 2013. – T. 127 - № 2 - 192-204c.
51. Babu R. Glioblastoma in the elderly: the effect of aggressive and modern therapies on survival / Babu R // *Journal of Neurosurgery* - 124 - №4 - 998–1007c.
52. Balss J. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. / Balss J., Meyer J., Mueller W., Korshunov A., Hartmann C., von Deimling A. // *Acta Neuropathol.* - 2008. – 116 - № 6 - 597-602c.
53. Barbagallo G.M. 5-ALA fluorescence-assisted surgery in pediatric brain tumors: report of three cases and review of the literature. / Certo F., Heiss K., Albanese V. // *Br J Neurosurg.* - 2014. - Dec – T. 28 - № 6 - 750-4c.

54. Barbus S. Differential retinoic acid signaling in tumors of long- and short-term glioblastoma survivors / Barbus S., Tews B., Karra D. // *J. Natl Cancer Inst.* – 2011. – T. 10 - № 7 - 598-601c.
55. Barker F.G. Survival and functional status after resection of recurrent glioblastoma multiforme / Barker F.G. // *Neurosurgery.* - 1998.- T. 42 - №4 - –709-720 C.
56. Bayin N.S. Evaluation of Radioresponse and Radiosensitizers in Glioblastoma Organotypic Cultures. / Ma L., Placantonakis D.G., Barcellos-Hoff // *Methods Mol Biol.* – 2018. – T. 1741 - 171-182c.
57. Beez T. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of brain tumors in children--a technical report / Beez T., Sarikaya-Seiwert S., Steiger H.J., Hänggi D. // *Acta Neurochir (Wien).* - 2014. - Mar – T. 156 - № 3 - 597-604c.
58. Bekelis K. Quantitative and qualitative 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in skull base meningiomas / Bekelis K., Valdés P.A., Erkmen K., Leblond F., Kim A., Wilson B.C., Harris B.T., Paulsen K.D., Roberts D.W. // *Neurosurg Focus* 30.
59. Bello L. Intraoperative subcortical language tract mapping guides surgical removal of gliomas involving speech areas / Bello L., Gallucci M., Fava M., Carrabba G., Giussani C., Acerbi F., Baratta P., Songa V., Conte V., Branca V., Stocchetti N., Papagno C., Gaini S.M. // *Neurosurgery.* - 2007. - Jan – T. 60 - № 1 - 67-80c.
60. Belykh E. Intraoperative Fluorescence Imaging for Personalized Brain Tumor Resection: Current State and Future Directions / Belykh E., Martirosyan N.L., Yagmurlu K., Miller E.J., Eschbacher J.M., Izadyyazdanabadi M., Bardonova L.A., Byvaltsev V.A., Nakaji P., Preul M.C. // *Front Surg.* – 2016.- Oct – T. 17 - 3:55c.
61. Belloch, J. P. Fluorescence-guided surgery in high grade gliomas using an exoscope system / Belloch, J. P. // *Acta Neurochirurgica* – 2014. - T. 156 - № 4 - 653–660c.
62. Berendsen S. Prognostic relevance of epilepsy at presentation in glioblastoma patients / Berendsen S., Varkila M., Kroonen J., Seute T., Snijders T.J.,

Kauw F., Spliet W.G., Willems M., Poulet C., Broekman M.L., Bours V., Robe P.A. // *Neuro Oncol.* – 2016. - May – T. 18 - № 5- 700-6c.

63. Berger M.S. Correlation of motor cortex brain mapping data with magnetic resonance imaging / Berger M.S., Cohen W.A., Ojemann G.A. // *J. Neurosurg.* - 1990. - Mar – T. 72 - № 3 - 383-7c.

64. Bernal García L.M. Fluorescence-guided resection with 5-aminolevulinic acid of meningeal sarcoma in a child / Cabezudo Artero J.M., Royano Sánchez M., Marcelo Zamorano M.B., López Macías M. // *Childs Nerv Syst.* – 2015. - Jul – T. 31 - № 7 - 1177-80c.

65. Bloch O. Impact of extent of resection for recurrent glioblastoma on overall survival? / Bloch O. // *Journal of Neurosurgery*, - 2014. - T. 117 - № 6 - 1032–1038c.

66. Bø, H. K. Intraoperative 3D ultrasound–guided resection of diffuse low-grade gliomas: radiological and clinical results / Bø, H. K. // *Journal of Neurosurgery.* - 2019.- 1–12c.

67. Boiardi A. PCV chemotherapy for recurrent glioblastoma multiforme Boiardi A. // *Neurology.* - 2001.- T. 56 - № 12. –1782c.

68. Borovich B. Recurrence of intracranial meningiomas: the role played by regional multicentricity / Borovich B. - *J Neurosurg.* – 1986. - Jan – T. 64 - № 1 - 58-63c.

69. Brennan Nicole Petrovich Language Mapping Using fMRI and Direct Cortical Stimulation for Brain Tumor Surgery: The Good, the Bad, and the Questionable / Brennan Nicole Petrovich, Kyung K. Peck, Andrei Holodny// *Top Magn Reson Imaging.* Author manuscript; available in PMC 2017 Feb 1.

70. Brown T.J., Brennan M.C., Li M., Church E.W. Association of the Extent of Resection With Survival in Glioblastoma: A Systematic Review and Meta-analysis / Brown T.J., Brennan M.C., Li M., Church E.W. // *JAMA Oncol.* – 2016. - Nov – T.1- № 2(11) - 1460-1469c.

71. Bucci M. Quantifying diffusion MRI tractography of the corticospinal tract in brain tumors with deterministic and probabilistic methods / Bucci M., Mandelli M.L., Berman J.I., Amirbekian B., Nguyen C., Berger M.S., Henry R.G. // *NeuroImage Clin.*

– 2013.- T. 3 - 361–8c.

72. Burger P.C. Topographic anatomy and CT correlations in the untreated glioblastoma multiforme / Burger P.C., Heinz E.R., Shibata T., Kleihues P. - J. Neurosurg - 1988. – T. 68 - № 5 - 698–704c.

73. Burton E.C. Genetic aberrations defined by comparative genomic hybridization distinguish long-term from typical survivors of glioblastoma / Burton E.C., Lamborn K.R., Feuerstein B.G. // Cancer Res. – 2002. – T. 62 - № 4 - 6205-6210c.

74. Butowski N.A. Diagnosis and treatment of recurrent high-grade astrocytoma/ Butowski N.A., Sneed P.K., Chang S.M. // J. Clin Oncol. - 2006. - T. 24- № 8 –1273-1280c.

75. Cage T.A. Subependymal spread of recurrent glioblastoma detected with the intraoperative use of 5-aminolevulinic acid: case report / Cage T.A., Pekmezci M., Prados M., Berger M.S. // J Neurosurg. - 2013. - T.118 - №6 –1220-3c.

76. Carson K. Prognostic factors for survival in adult patients with recurrent glioma enrolled onto the new approaches to brain tumor therapy CNS Consortium phase I and II clinical trials. / Carson K., Grossman S., Fisher J.D., Shaw E.G. // J. Clin Oncol. – 2007. – T. 25 - № 18 - 2601-2606c.

77. Catani M. A novel frontal pathway underlies verbal fluency in primary progressive aphasia / Catani M., Mesulam M.M., Jakobsen E. // Brain – 2013. – T. 136- № 8 - 2619-2628c.

78. Catapano G. Fluorescein-assisted stereotactic needle biopsy of brain tumors: a single-center experience and systematic review / Catapano G., Sgulò F.G., Seneca V., Iorio G., de Notaris M., di Nuzzo G. // Neurosurg Rev. – 2019. - Jun – T. 42 - № 2 - 309-318c.

79. Chandler K.L. Long-term survival in patients with glioblastoma multiforme / Chandler K.L., Prados M.D., Malec M., Wilson C.B., Salzman M., Black P.M. // Neurosurgery. – 1993 – T. 32 - № 5 - 716-720c.

80. Chang S.W. Use of optical fluorescence agents during surgery for pituitary adenomas: current state of the field. / Chang S.W., Donoho D.A., Zada G. J Neurooncol. – 2019. - Feb – T. 141 - № 3 - 585-593c.

81. Cheng G. Complications of stereotactic biopsy of lesions in the sellar region, pineal gland, and brainstem: A retrospective, single-center study. *Medicine (Baltimore)* / Cheng G., Yu X., Zhao H., Cao W., Li H., Li Q., Li Z., Yin F., Liu R., Zhang J. // *J Neurooncol* - 2020. - Feb – T. 99 - № 8) – 18572c.
82. Choo J. Neuroendoscopic Cylinder Surgery and 5-Aminolevulinic Acid Photodynamic Diagnosis of Deep-Seated Intracranial Lesions / Takeuchi K., Nagata Y., Ohka F. // *World Neurosurg.* – 2018. - Aug – T. 116 - 35-41c.
83. Clarke J.L. North American Brain Tumor Consortium. Is surgery at progression a prognostic marker for improved 6-month progression-free survival or overall survival for patients with recurrent glioblastoma? / Clarke J.L. // *Neuro Oncol.* - 2011. - T.13 - №10 –1118–24c.
84. Coburger J. Tumor detection with 5-aminolevulinic acid fluorescence and Gd-DTPA-enhanced intraoperative MRI at the border of contrast-enhancing lesions: a prospective study based on histopathological assessment / Coburger J.// *Neurosurgical Focus* –2014. - T. 36 - № 2 – 123-126c.
85. Coburger J. Low-grade Glioma Surgery in Intraoperative Magnetic Resonance Imaging / Coburger J. // *Neurosurgery* - 2016. – T. 78 - № 6 - 775–786c.
86. Coburger J. Contemporary use of intraoperative imaging in glioma surgery: A survey among EANS members / Coburger J. // *Clinical Neurology and Neurosurgery* - 2017. - T. 163 - 133–141c.
87. Coluccia D. Intraoperative 5-aminolevulinic-acid-induced fluorescence in meningiomas / Coluccia D., Fandino J., Fujioka M., Cordovi S., Muroi C., Landolt H. // *Acta Neurochir (Wien).* - 2010 - T. 152 - № 10 - 1711-1719c.
88. Dammers R. Towards improving the safety and diagnostic yield of stereotactic biopsy in a single centre / Dammers R., Schouten J.W., Haitsma I.K., Vincent A.J., Kros J.M., Dirven C.M. // *Acta neurochir* - Nov 2010. – T. 152 - № 11 – 1915-21c.
89. Coello A.F. Selection of intraoperative tasks for awake mapping based on relationships between tumor location and functional networks / Coello A.F., Moritz-Gasser S., Martino J., Martinoni M., Matsuda R., Duffau H. // *J. Neurosurg.* - 2013 – T. 119 - № 6 - 1380–94c.

90. Colditz M.J. Aminolevulinic acid (ALA)-protoporphyrin IX fluorescence guided tumour resection. Part 2: theoretical, biochemical and practical aspects. / Colditz M.J., Leyen K., Jeffree R.L. // *J. Clin Neurosci.* - 2012. - Dec - T. 19 - № 12 - 1611-6c.
91. Coluccia D. Intraoperative 5-aminolevulinic-acid-induced fluorescence in meningiomas / Coluccia D. // *Acta Neurochirurgica* - 2016. – T. 152 - № 10 - 1711–1719c.
92. Commins D.L. Review of meningioma histopathology / Atkinson R.D., Burnett M.E. // *Neurosurg Focus* - 2007 – Oct- T. 23- № 4- 3c.
93. Cornelius J. 5-Aminolevulinic Acid and 18F-FET-PET as Metabolic Imaging Tools for Surgery of a Recurrent Skull Base Meningioma / Cornelius J. // *Journal of Neurological Surgery Part B: Skull Base* – 2013. - T. 74 - № 4 - 211–216c.
94. Corns R. 5-aminolevulinic acid guidance during awake craniotomy to maximise extent of safe resection of glioblastoma multiforme / Corns R., Mukherjee S., Johansen A., Siva G.// *BMJ Case Rep.* - 2015. - 208-5c.
95. Das P. A clinicopathological and molecular analysis of glioblastoma multiforme with long-term survival / Puri T., Jha P. // *J Clin Neurosci.* – 2011. – T. 18 - № 1 - 66-70c.
96. De Benedictis A. Anatomico-functional study of the temporo-parieto-occipital region: dissection, tractographic and brain mapping evidence from a neurosurgical perspective/ De Benedictis A., Duffau H., Paradiso B. // *J. Anat.* – 2014. – T. 225 - № 2 - 132-51c.
97. De Benedictis A. Subcortical surgical anatomy of the lateral frontal region: human white matter dissection and correlations with functional insights provided by intraoperative direct brain stimulation / De Benedictis A., Sarubbo S., Duffau H. // *J Neurosurg.* – 2012.- T. 117 - № 6 - 1053–69c.
98. De Bonis P. The influence of surgery on recurrence pattern of glioblastoma / De Bonis P., Anile C., Pompucci A. // *Clin Neurol Neurosurg.* - 2013 – T. 115 - № 1 - 37-43c.
99. Deibler A.R. Arterial spin-labeling in routine clinical practice, part 1:

technique and artifacts / Pollock J.M., Kraft R.A., Tan H., Burdette J.H., Maldjian J.A. // AJNR Am J Neuroradiol. – 2008. - Aug – T. 29 - № 7 1228-34c.

100. de Schotten M.T. A lateralized brain network for visuospatial attention / Dell'Acqua F., Forkel S.J. // Nat. Neurosci. – 2011. – T. 14 - № 10 - 1245-1246c.

101. De Witt Hamer P.C. Analysis of the subcomponents and cortical terminations of the perisylvian superior longitudinal fasciculus: A fiber dissection and DTI tractography study / De Witt Hamer P.C., Berger M.S. // Brain Struct. Funct. – 2013. – T. 218 - № 1 - 105-121c.

102. De Witt Hamer PC, Robles SG, Zwinderman AH, Duffau H, Berger MS. Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: A meta-analysis. J Clin Oncol. 2012;30(20):2559–65. ; DOI: 10.1200/JCO.2011.38.4818

103. Deb P. Glioblastoma multiforme with long term survival / Deb P., Sharma M.C., Mahapatra A.K., Agarwal D., Sarkar C. // Neurol India - 2005. - T. 53 - № 3 - 329-332c.

104. De la Garza-Ramos R. Fluorescent techniques in spine surgery / De la Garza-Ramos R., Bydon M., Macki M., Huang J., Tamargo R.J., Bydon A. // Neurol Res. – 2014 - Oct – T. 36 - № 10 - 928-38c.

105. Della Puppa A. 5-aminolevulinic acid (5-ALA) fluorescence guided surgery of high-grade gliomas in eloquent areas assisted by functional mapping. Our experience and review of the literature / Della Puppa A// Acta Neurochirurgica – 2013. - T. 155 - № 6 - 965–972c.

106. Della Puppa A. Predictive value of intraoperative 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence for detecting bone invasion in meningioma surgery / Della Puppa A., Rustemi O., Gioffrè G. // J Neurosurg. - 2014. - Apr – T. 120 - № 4 - 840-5c.

107. Díez Valle, R. Estudio observacional retrospectivo sobre la efectividad del ácido 5-aminolevulinico en la cirugía de los gliomas malignos en España (Estudio VISIONA) / Slob J., Galván, J., Arza, C., Romariz, C., Vidal, C., Peña Dr., J. M.// Neurología – 2014. - T. 29 - № 3 - 131–138c.

108. Dinh J. Comparison of proton therapy techniques for treatment of the whole brain as a component of craniospinal radiation/ Dinh J. // Radiat Oncol. - 2013. - T.8.

– C. 289.

109. Dragoy O. Russian Intraoperative Naming Test: a Standardized Tool to Map Noun and Verb Production during Awake Neurosurgeries / Dragoy O., Chrabaszczyk A., and Tolkacheva V. // *Russian Journal of Cognitive Science* – 2016. – T. 3 - № 4 - 4–25c.

110. Duffau H. Usefulness of intraoperative electrical subcortical mapping during surgery for low-grade gliomas located within eloquent brain regions: functional results in a consecutive series of 103 patients / Capelle L., Denvil D., Sichez N., Gatignol P. // *J Neurosurg.* – 2003. – T. 98 - № 4 - 764–78c.

111. Duffau H. Intraoperative subcortical stimulation mapping of language pathways in a consecutive series of 115 patients with Grade II glioma in the left dominant hemisphere / Duffau H., Gatignol P., Mandonnet E., Capelle L., Taillandier L. // *J Neurosurg.* – 2008. – T. 109 - № 3 - 461–71c.

112. Duffau H. A two-level model of interindividual anatomo-functional variability of the brain and its implications for neurosurgery/ Duffau H. // *Cortex* 2016.

113. Duffau H. The anatomo-functional connectivity of language revisited. New insights provided by electrostimulation and tractography / Duffau H. // *Neuropsychologia* – 2008. – T. 46 - № 4 - 927-934c.

114. Duffau H. Is Supratotal Resection of Glioblastoma in Noneloquent Areas Possible?, *World Neurosurgery* – 2014. – T. 82 - № 1–2, 101-103c.

115. Duffau H. Long-term outcomes after supratotal resection of diffuse low-grade gliomas: a consecutive series with 11-year follow-up / Duffau H. // *Acta Neurochirurgica*, - 2016. – T. 158 - № 1 – 51-58c.

116. Duffau, H. Usefulness of intraoperative electrical subcortical mapping during surgery for low-grade gliomas located within eloquent brain regions: functional results in a consecutive series of 103 patients / Duffau, H. // *Journal of Neurosurgery* – 2014. – T. 98 - № 4 – 764-778c.

117. Duffau H. Intraoperative subcortical stimulation mapping of language pathways in a consecutive series of 115 patients with Grade II glioma in the left dominant hemisphere / Duffau H. // *Journal of Neurosurgery* – 2014. – T. 109- № 3 - 461–471c.

118. Eicker, S. O. The impact of fluorescence guidance on spinal intradural tumour surgery / Eicker, S. O. // *European Spine Journal* – 2013. – T. 22 - № 6 - 1394–1401c.
119. Eljamel M.S. New light on the brain: The role of photosensitizing agents and laser light in the management of invasive intracranial tumors / Eljamel M.S. // *Technol Cancer Res Treat.* – 2003.- Aug- T. 2- № 4 - 303-9c.
120. Eljamel S. 5-ALA Fluorescence Image Guided Resection of Glioblastoma Multiforme: A Meta-Analysis of the Literature / Eljamel S. // *Int J Mol Sci.* – 2015. - T. 16 - № 5 - 10443-56c.
121. Emmanuel C. Long-term survival after glioblastoma resection: hope despite poor prognosis factors. , *Journal of neurosurgical sciences* - 2018. – T. 98 - № 3 - 103-6c.
122. Engel I.A. Neurosurgical intra-operative ultrasound: tumor localization and characterization. / Engel I.A., Voorhies R.M., Schneider M., Fraser R.A., Kazam E.// *Ultrasound Med Biol.* - 1983. - № 2 - 353-6c.
123. Eyüpoglu I.Y. Improving the extent of malignant glioma resection by dual intraoperative visualization approach / Eyüpoglu I.Y., Hore N., Savaskan N.E., Grummich P., Roessler K., Buchfelder M., Ganslandt O.// *PLoS One.* - 2012. - T. 7 - № 9 – 448-85c.
124. Ewelt C. Finding the anaplastic focus in diffuse gliomas: The value of Gd-DTPA enhanced MRI, FET-PET, and intraoperative, ALA-derived tissue fluorescence / Ewelt C.// *Clinical Neurology and Neurosurgery* – 2011. – T. 113 - № 7 - 541–547c.
125. Feigl G.C. Resection of malignant brain tumors in eloquent cortical areas: a new multimodal approach combining 5-aminolevulinic acid and intraoperative monitoring / Ritz R., Moraes M., Klein J., Ramina K., Gharabaghi A., Krischek B., Danz S., Bornemann A., Liebsch M., Tatagiba M.S. // *J Neurosurg.* – 2010. - T. 113 - № 2 - 352-7c.
126. Ferraro N. The role of 5-aminolevulinic acid in brain tumor surgery: a systematic review. / Barbarite E., Albert T.R., Berchmans E., Shah A.H., Bregy A., Ivan M.E., Brown T., Komotar R.J. // *Neurosurg Rev.* - 2016 – T. 39 - № 4 - 545-55c.

127. Field K.M. Comparison between poor and long-term survivors with glioblastoma: Review of an Australian dataset / Field K.M., Rosenthal M.A., Yilmaz M., Tacey M., Drummond K. // *Asia Pac J Clin Oncol.* – 2013. – T. 1-№ 9.
128. Filippini G. Prognostic factors for survival in 676 consecutive patients with newly diagnosed primary glioblastomas/ Filippini G., Falcone C., Boiardi A. // *Neuro Oncol.* - 2008. - T.10 - №1. –9-87c.
129. Floeth F.W. Comparison of (18)F-FET PET and 5-ALA fluorescence in cerebral gliomas / Sabel M., Ewelt C., Stummer W., Felsberg J., Reifenberger G., Steiger H.J., Stoffels G., Coenen H.H., Langen K.J. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* – 2011. - T. 38 - № 4 - 731-41c.
130. Foster N. and Eljamel S. ALA-induced fluorescence image guided surgery of meningiomas: A meta-analyses / Foster N. and Eljamel S. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* – 2016. – T. 15, 73–78c.
131. Freyschlag C.F. Awake brain mapping of cortex and subcortical pathways in brain tumor surgery / Freyschlag C.F., Duffau H. // *J Neurosurg Sci.* - 2014. - № 2 – 340-45c.
132. Fujii M. Intraoperative subcortical mapping of a language-associated deep frontal tract connecting the superior frontal gyrus to Broca's area in the dominant hemisphere of patients with glioma / Maesawa S., Motomura K., Futamura M., Hayashi Y., Koba I., Wakabayashi T.// *J Neurosurg.* – 2015. – T. 122 - № 6 - 1390–6c.
133. Gandhi S. Survival Outcomes Among Patients With High-Grade Glioma Treated With 5-Aminolevulinic Acid-Guided Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis / Gandhi S., Tayebi Meybodi A., Belykh E., Cavallo C., Preul M.C. // *Front Oncol.* – 2019. - T. 17 - № 9 – 620-5c.
134. Garrett M.D. Monitoring Radiation Treatment Effects in Glioblastoma: FLAIR Volume as Significant Predictor of Survival / Garrett M.D., Yanagihara K., Yeh R., McKhann G.M. // *Tomography* – 2017. - T. 3 - № 3 - 131-137c.
135. Gaspar L.E. Supratentorial malignant glioma: patterns of recurrence and implications for external beam local treatment / Gaspar L.E., Fisher B.J., Macdonald D.R. // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* - 1992. - T. 24 - 55–57c.

136. Gerritsen Jasper Kees Wim Impact of intraoperative stimulation mapping on high-grade glioma surgery outcome: a meta-analysis / Lidia Arends, Markus Klimek, Clemens Maria Franciscus Dirven, Arnaud Jean-Pierre Edouard Vincent // *Acta Neurochir (Wien)* – 2019. – T. 161 - № 1 - 99–107c.
137. Glasser M.F. DTI tractography of the human brain's language pathways / Glasser M.F., Rilling J.K. // *Cereb. Cortex* - 2008. – T. 18 - № 11 - 2471-2482c.
138. Goyal N. Does bony hyperostosis in intracranial meningioma signify tumor invasion? A radio-pathologic study / Goyal N., Kakkar A., Sarkar C., Agrawal D. // *Neurol India*. - 2012 – T. 60 - № 1 - 50-4c.
139. Guyotat J. 5-Aminolevulinic Acid-Protoporphyrin IX Fluorescence-Guided Surgery of High-Grade Gliomas: A Systematic Review / Guyotat J., Pallud J., Armoiry X., Pavlov V., Metellus P. // *Adv Tech Stand Neurosurg*. – 2016. – T. 43 - 61-90c.
140. Haider S. A. The impact of 5-aminolevulinic acid on extent of resection in newly diagnosed high grade gliomas: a systematic review and single institutional experience / Haider S. A. // *Journal of Neuro-Oncology* – 2019. – T. 141 - № 3 - 507–515c.
141. Hamisch C. Impact of treatment on survival of patients with secondary glioblastoma / Hamisch C. // *Journal of Neuro-Oncology* – 2017. - T. 133 - № 2 - 309–313c.
142. Hartmann C. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations / Hartmann C., Hentschel B., Simon M. // *Clin Cancer Res*. - 2013. – T. 19 - № 18 - 5146-5157c.
143. Haust H.L. Protoporphyrinaemia and decreased activities of 5-aminolevulinic acid dehydrase and uroporphyrinogen I synthetase in erythrocytes of a Vitamin B6-deficient epileptic boy given valproic acid and carbamazepine / Poon H.C., Carson R., VanDeWetering C., Peter F. // *Clin Biochem* – 1989. - T. 22 - № 3 - 201-11c.
144. Hebeda K.M. 5-Aminolevulinic acid induced endogenous porphyrin fluorescence in 9L and C6 brain tumours and in the normal rat brain / Hebeda K.M., Saarnak A.E., Olivo M., Sterenborg H.J., Wolbers J.G. // *Acta Neurochir (Wien)*. – 1998. – T. 140 - № 5 - 503-12c.

145. Hefti M. Susceptibility to 5-Aminolevulinic Acid Based Photodynamic Therapy in WHO I Meningioma Cells Corresponds to Ferrochelatase Activity / Hefti M. // *Photochemistry and Photobiology* – 2011. – T. 87 - № 1 - 235–241c.
146. Hefti M. 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX fluorescence in high-grade glioma surgery: a one-year experience at a single institution / Hefti M., von Campe G., Moschopoulos M., Siegner A., Looser H., Landolt H. // *Swiss Med Wkly.* - 2008. - T. 22 - № 138 (11-12) - 180-5c.
147. Hefti M. Phenytoin reduces 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX accumulation in malignant glioma cells / Hefti M., Albert I., Luginbuehl V. // *J Neurooncol.* – 2012. - T. 108 - № 3 - 443-50c.
148. Hollon T.C. Near real-time intraoperative brain tumor diagnosis using stimulated Raman histology and deep neural networks / Pandian B., Adapa A.R., Urias E., Save A.V., P, Lee H., Camelo-Piragua S., Orringer D.A. // *Nat Med.* - 2020. - T. 26 - № 1 - 52-58c.
149. Hottinger A.F. Neurological outcome of long-term glioblastoma survivors / Hottinger A.F., Yoon H., Deangelis L.M., Abrey L.E. // *J Neurooncol.* – 2009. – T. 95 - № 3 - 301-305c.
150. Idoate M.A. Pathological characterization of the glioblastoma border as shown during surgery using 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence / Idoate M.A., Díez Valle R., Echeveste J., Tejada S. // *Neuropathology* - 2011. – T. 31- № 6 - 575–582c.
151. Inoue T. 5-Aminolevulinic Acid Fluorescence-Guided Resection of Intramedullary Ependymoma / Inoue T. // *Operative Neurosurgery* – 2013. - T. 72 - 123-31.
152. Jaber M. The Value of 5-Aminolevulinic Acid in Low-grade Gliomas and High-grade Gliomas Lacking Glioblastoma Imaging Features / Jaber M. // *Neurosurgery* – 2016. - T. 78 - № 3 - 401–411c.
153. Jenkinson M.D. Cochrane Database Syst Rev. Intraoperative imaging technology to maximise extent of resection for glioma / Jenkinson M.D., Barone D.G., Bryant A., Vale L., Bulbeck H., Lawrie T.A., Hart M.G, Watts C. // *Cochrane Database*

Syst Rev - 2018. - T. 22 - № 1 - 12788.

154. Ja Eun Kim Mechanism for enhanced 5-aminolevulinic acid fluorescence in isocitrate dehydrogenase 1 mutant malignant gliomas / Ja Eun Kim, Hye Rim Cho, Wen Jun Xu, Ji Young Kim, Sung Kwon Kim, Seung-Ki Kim // *Oncotarget* - 2015. - T. 21 - № 6 (24) - 20266–20277c.

155. Jain R. Outcome prediction in patients with glioblastoma by using imaging, clinical, and genomic biomarkers: focus on the nonenhancing component of the tumor / Jain R., Poisson L.M., Gutman D., Scarpace L., Hwang S.N., Holder C.A., Wintermark M., Rao A., Colen R.R., Kirby J., Freymann J., Jaffe C.C., Mikkelsen T., Flanders A. // *Radiology* - 2014. – T. 272 - № 2 - 484-93c.

156. Jezewski D. Intracerebral metastasis of glioblastoma multiforme. Case report and literature review / Jezewski D. Parafiniuk D., Nowacki P., Kojder I. // *Ann Acad Med Stetin*. - 2011. - T. 57 - №1. – 59-63c.

157. Ji S.Y. Experience Profiling of Fluorescence-Guided Surgery I: Gliomas / Ji S.Y., Kim J.W., Park C.K. // *Brain Tumor Res Treat*. - 2019 – T. 7 - № 2 - 98-104c.

158. Ji S.Y. Experience Profiling of Fluorescence-Guided Surgery II: Non-Glioma Pathologies / Ji S.Y., Kim J.W. Park C.K. // *Brain Tumor Res Treat*. - 2019 – T. 7 - № 2 - 105-111c.

159. Jia Y. Photodynamic therapy combined with temozolomide inhibits C6 glioma migration and invasion and promotes mitochondrial-associated apoptosis by inhibiting sodium-hydrogen exchanger isoform 1 / Jia Y., Chen L., Chi D., Cong D., Zhou P., Jin J., Ji H., Liang B., Gao S., Hu S. // *Photodiagnosis Photodyn Ther*. – 2019 – T. 26 - 405-412c.

160. Jiang H. Super-early initiation of temozolomide prolongs the survival of glioblastoma patients without gross-total resection: a retrospective cohort study / Jiang H., Zeng W., Ren X., Cui Y., Li M., Yang K. // *J Neurooncol*. - 2019 – T. 144 - № 1 - 127-135c.

161. Johnston A. Ongoing improvements in postoperative survival of glioblastoma in the temozolomide era: a population-based data linkage study / Johnston A., Creighton N., Parkinson J., Koh E., Wheeler H., Hovey E., Rodriguez M., Currow D.

Neurooncol Pract. 2020 Jan;7(1):22-30. doi: 10.1093/nop/npz021. Epub 2019 Jul 6.

162. Kajimoto Y. Use of 5-aminolevulinic acid in fluorescence-guided resection of meningioma with high risk of recurrence. Case report / Kajimoto Y., Kuroiwa T, Miyatake S, Ichioka T, Miyashita M, Tanaka H, Tsuji M. // J Neurosurg. - 2007 – T. 106 - № 6 - 1070-1074c.

163. Kamoshima Y. Analyses of IDH1 mutation and MGMT promoter methylation status for 5 cases of long-term survivors with glioblastoma / Kamoshima Y., Motegi H., Terasaka S. // No Shinkei Geka. – 2012. – T. 40 - № 2 - 129-135c.

164. Kamp M.A. 5-aminolevulinic acid (5-ALA)-induced fluorescence in intracerebral metastases: a retrospective study / Grosser P., Felsberg J., Slotty P.J., Steiger H.J., Reifenberger G., Sabel M. // Acta Neurochir (Wien) - 2012 – T. 154 - № 2 - 223-8c.

165. Kamp M. A. 5-ALA fluorescence of cerebral metastases and its impact for the local-in-brain progression / Kamp M. A.// Oncotarget. – 2016 – 11488c.

166. Kamp M.A. Is 5-ALA fluorescence of cerebral metastases a prognostic factor for local recurrence and overall survival? / Kamp M.A., Munoz-Bendix C., Mijderwijk H.J., Turowski B., Dibué-Adjei M., von Saß C., Cornelius J.F., Steiger H.J., Rapp M., Sabel M. // J Neurooncol. – 2019. - T. 141 - № 3 - 547-553c.

167. Kaneko S. and Eljamel M. S. Fluorescence image-guided neurosurgery / Kaneko S. and Eljamel M. S. // Future Oncology – 2017. - T. 13 - № 26 - 2341–2348c.

168. Kantor G. Gross tumor volume (GTV) and clinical target volume (CTV) in adult gliomas / Kantor G., Loiseau H., Vital A., Mazon J.J. // Cancer Radiother. - 2001. - T. 5 - №5. –571-80c.

169. Kiesel B. 5-ALA-induced fluorescence as a marker for diagnostic tissue in stereotactic biopsies of intracranial lymphomas: experience in 41 patients / Kiesel B., Millesi M., Woehrer A., Furtner J., Bavand A., Roetzer T., Mischkulnig M., Wolfsberger S., Preusser M., Knosp E., Widhalm G. // Neurosurg Focus. - 2018 – T. 44 - № 6- 7-12c.

170. Kim Y.I. Comparison of dual-time point 18F-FDG PET/CT tumor-to-background ratio, intraoperative 5-aminolevulinic acid fluorescence scale, and Ki-67 index in high-grade glioma / Kim Y.I., Cho K.G., Jang S.J.// Medicine (Baltimore). –

2019. – T. 98 - № 8- 14397c.

171. Kim J.E. Mechanism for enhanced 5-aminolevulinic acid fluorescence in isocitrate dehydrogenase 1 mutant malignant gliomas / Kim J.E., Cho H.R., Xu W., Kim J.Y. // *Oncotarget* – 2015. - T. 21 - № 6 (24) - 20266-77c.

172. Kishore R. Noninvasive Optical Imaging of UV-Induced Squamous Cell Carcinoma in Murine Skin: Studies of Early Tumor Development and Vitamin D Enhancement of Protoporphyrin IX Production *Photochem Photobiol* / Kishore R., Rollakanti, Sanjay Anand, Scott C. Davis, Brian W. Pogue, Edward V. Maytin// Author manuscript; available in PMC - 2016. - 1. T. 91 - № 6 - 1469–1478c.

173. Knipps J. Quantification of PpIX-fluorescence of cerebral metastases: a pilot study / Knipps J., Fischer I., Neumann L.M., Rapp M., Dibué-Adjei M., Freiin von Saß C., Placke J.M., Mijderwijk H.J., Steiger H.J., Sabel M., Cornelius J.F., Kamp M.A. // *Clin Exp Metastasis* – 2019. - T. 36 - № 5 - 467-475c.

174. Knipps J. Fluorescence behavior and dural infiltration of meningioma analyzed by 5-aminolevulinic acid-based fluorescence: operating microscope versus mini-spectrometer / Knipps J., Beseoglu K., Kamp M., Fischer I., Felsberg J., Neumann L.M., Steiger H.J., Cornelius J.F. // *World Neurosurg.* – 2017. – T. 108 - 118-127c.

175. Kongkham P.N. Complications in 622 cases of frame-based stereotactic biopsy, a decreasing procedure / Kongkham P.N., Knifed E., Tamber M.S. // *Can J Neurol Sci.* - 2008. – T. 35 - 79–84c.

176. Konishi Y. Patterns of intracranial glioblastoma recurrence after aggressive surgical resection and adjuvant management: retrospective analysis of 43 cases / Konishi Y. // *Neurol Med Chir (Tokyo).* - 2012.- T. 52 - №8. – 577-86c.

177. Krammer B. ALA and its clinical impact, from bench to bedside. / Krammer B., Plaetzer K. // *Photochem Photobiol Sci.* - 2008 – T. 7 - № 3 - 283-9c.

178. Kraus J. Molecular analysis of the PTEN, TP53 and CDKN2A tumor suppressor genes in long-term survivors of glioblastoma multiforme / Kraus J., Glesmann N., Beck M. // *J Neurooncol.* – 2000 . – T. 48 - № 2 - 89-94c.

179. Krex D. Long-term survival with glioblastoma multiforme / Krex D., Klink B., Hartmann C. // *Brain* - 2007. – T. 130 - № 10 - 2596-2606c.

180. Kulkarni A.V. Incidence of silent hemorrhage and delayed deterioration after stereotactic brain biopsy/ Kulkarni A.V., Guha A., Lozano A., Bernstein M.// *J Neurosurg.* – 1998. – T. 8 - № 1 - 31-5c.
181. La Rocca G. 5-ALA False-Positive in Anaplastic Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted / La Rocca G., Barresi V., Sabatino G., Altieri R., Ius T. // *Surg Technol Int.* – 2020. - T. 4 - № 36.
182. Lacroix M. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival / Lacroix M., Abi-Said D., Fournier D.R., Gokaslan Z.L., Shi W., DeMonte F., Sawaya R. // *J Neurosurg.* 2001. – T. 95 - № 2 - 190–8c.
183. Landy H.J. Retreatment of intracranial gliomas / Landy H.J., Feun L., Schwade J.G., Snodgrass S., Lu Y. // *Gutman F. South Med J.* - 1994. – T. 87 - № 2 - 211-214c.
184. Larjavaara S. Incidence of gliomas by anatomic location / Larjavaara S., Mantyla R., Salminen T., Haapasalo H., Raitanen J., Jääskeläinen J., Auvinen A. // *Neuro Oncol.*- 2007. – T. 9 - № 3 - 319–25c.
185. Lawrence J.E. Dexamethasone alone and in combination with desipramine, phenytoin, valproic acid or levetiracetam interferes with 5-ALA-mediated PpIX production and cellular retention in glioblastoma cells / Lawrence J.E., Steele C.J., Rovin R.A., Belton R.J., Winn R.J.// *J Neurooncol.* – 2016. - T. 127 - № 1 - 15-21c.
186. Lee J.Y. Near-infrared fluorescent image-guided surgery for intracranial meningioma / Lee J.Y., Pierce J.T., Thawani J.P., Zeh R., Nie S., Martinez-Lage M., Singhal S. // *J Neurosurg.* – 2017 - 1-11c.
187. Leppert J. Multiphoton excitation of autofluorescence for microscopy of glioma tissue / Leppert J., Krajewski J., Kantelhardt S.R., Schlaffer S., Petkus N., Reusche E., Hüttmann G., Giese A.// *Neurosurgery* - 2006. - T. 58 - № 4 - 759-67c.
188. Leroy H. A. Fluorescence guided resection and glioblastoma in 2015: A review / Leroy H. A., Vermandel M., Lejeune J. P., Mordon S., & Reyns // *Lasers in Surgery and Medicine* – T. 47 - № 5 - 441-51c.
189. Leroy H.A. Interstitial photodynamic therapy and glioblastoma. Light

fractionation in a preclinical model / Leroy H.A., Vermandel M., Vignion-Dewalle A.S., Leroux B., Maurage C.A., Duhamel A., Mordon S., Reyns N. // *Lasers Surg Med.* - 2017 – T. 49 - № 5 - 506-515c.

190. Leroy H.A. MRI assessment of treatment delivery for interstitial photodynamic therapy of high-grade glioma in a preclinical model / Leroy H.A., Vermandel M., Leroux B., Duhamel A., Lejeune J.P., Mordon S., Reyns N. // *Lasers Surg Med.* - 2018. - T. 50 - № 5 - 460-468c.

191. Lima G.L. Surgical resection of incidental diffuse gliomas involving eloquent brain areas. Rationale, functional, epileptological and oncological outcomes / Lima G.L., Dezamis E., Corns R., Rigaux-Viode O., Moritz-Gasser S., Roux A., Duffau H., Pallud J. // *Neurochirurgie* - 2017. – T. 63 - № 3 - 250–8c.

192. Loeffler J.S. Clinical patterns of failure following stereotactic interstitial irradiation for malignant gliomas / Loeffler J.S., Alexander E., Hochberg F.H. // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* - 1990. - T. 19 – 1455–1462c.

193. Loschenov V. B. Photodynamic Therapy and Fluorescence Diagnostics / Loschenov V. B., V. I. Konov, and A. M. Prokhorov // *Laser Physics* - 2000. - Vol. 10 - N 6 - 1188c.

194. Loschenov V.B. Spectra investigation methods of biological tissues. Technique. Experiments. Clinics / Loschenov V.B., Steiner R. // *Proc. SPIE Proc.* – 1993. - V. 2081 - 96-108c.

195. Louis D.N. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system / Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D. // *Acta Neuropathol.* – 2007. – T. 114 - № 2 - 97-109c.

196. Louis D.N. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary / Louis D.N. Perry A., Reifenberger G. // *Acta Neuropathol.* – 2016. – T. 131 - № 6 - 803-820c.

197. Louis David N Grading of diffuse astrocytic gliomas: Broders, Kernohan, Zülch, the WHO... and Shakespeare / Louis David N., Andreas von Deimling// *Acta Neuropathol* – 2017. – T. 134 - № 4 - 517-520c.

198. Mahboob S. O. and Eljamel M. Intraoperative image-guided surgery in

neuro-oncology with specific focus on high-grade gliomas / Mahboob S. O. and Eljamel M. // *Future Oncology* – 2017. – T. 13 № 26 - 2349–2361c.

199. Malone H. Complications Following Stereotactic Needle Biopsy of Intracranial Tumors / Malone H., Yang J., Hershman D.L., Wright J.D., Bruce J.N., Neugut A.I. // *World Neurosurg.* – 2015. - T. 84 - № 4 - 1084-9c.

200. Mandl E.S. Repeated surgery for glioblastoma multiforme: only in combination with other salvage therapy / Mandl E.S., Dirven C.M., Buis D.R., Postma T.J., Vandertop W.P. // *Surg Neurol.* – 2008. – T. 69 - № 5 - 506-509c.

201. Manoharan R. Sodium Fluorescein in Brain Tumor Surgery: Assessing Relative Fluorescence Intensity at Tumor Margins / Manoharan R., Parkinson J. // *Asian J Neurosurg.* – 2020. - T. 15 - № 1 - 88-93c.

202. Marbacher S. Use of fluorescence to guide resection or biopsy of primary brain tumors and brain metastases / Marbacher S., Klinger E., Schwyzer L., Fischer I., Nevzati E., Diepers M., Roelcke U., Fathi A.R., Coluccia D., Fandino J. // *Neurosurg Focus* - 2014. - T. 36 - № 2 – 10c.

203. Marinho M. Interaction Between Near-Infrared Radiation and Temozolomide in a Glioblastoma Multiform Cell Line: A Treatment Strategy? / Marinho M., da Silva Marques M., Lettnin A., de Souza Votto A., de Moraes Vaz Batista Filgueira D., Horn A.P. // *Cell Mol Neurobiol.* - 2021. – 2021. – T. 41 - № 1 - 91-104c.

204. 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 / Marko N.F., Weil R.J., Schroeder J.L., Lang F.F., Suki D., Sawaya R.E. // *J Clin Oncol.* – 2014. - T. 32 - № 8 - 774-82c.

205. Marongiu A. 1.5-T Field Intraoperative Magnetic Resonance Imaging Improves Extent of Resection and Survival in Glioblastoma Removal / Marongiu A D'Andrea G. and Raco A. // *World Neurosurgery* – 2017. – T. 98 - 578–586c.

206. Martinez R., Frequent hypermethylation of the DNA repair gene MGMT in long-term survivors of glioblastoma multiforme / Martinez R., Schackert G., Yaya-Tur R., Rojas-Marcos I., Herman J.G., Esteller M. // *J Neurooncol.* - 2007. – T. 83 № 1 - 91-93c.

207. Martínez-Moreno M. Ex-vivo analysis of quantitative 5-ALA fluorescence intensity in diffusely infiltrating gliomas using a handheld spectroscopic probe: Correlation with histopathology, proliferation and microvascular density / Martínez-Moreno M., Kiesel B., Woehrer A., Mischkulnig M., Furtner J., Timelthaler G., Berger W., Knosp E., Widhalm G. // *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2019. - T. 27 - 354-361c.
208. Martino J., Subcortical anatomy of the lateral association fascicles of the brain: A review / Martino J., De Lucas E.M. // *Clin. Anat.* - 2014. – T. 27 - № 4 - 563-569c.
209. Masubuchi T. Experimental study to understand nonspecific protoporphyrin IX fluorescence in brain tissues near tumors after 5-aminolevulinic acid administration / Kajimoto Y., Kawabata S., Nonoguchi N., Fujishiro T., Miyatake S., Kuroiwa T. // *Photomed Laser Surg.* - 2013. - T. 31 - № 9 - 428-33c.
210. McGirt M.J. Independent association of extent of with survival in patients with malignant brain astrocytoma / McGirt M.J., Chaichana K.L., Gathinji M. // *J. Neurosurg.* - 2009.- T. 110 - №1 –156–162c.
211. McLendon R.E. Is the long-term survival of patients with intracranial glioblastoma multiforme overstated? / McLendon R.E. Halperin E.C. // *Cancer.* – 2003 . – T. 98 - № 8 - 1745-1748c.
212. Mehdorn H.M. High-field iMRI in glioblastoma surgery: improvement of resection radicality and survival for the patient? / Mehdorn H.M., Schwartz F., Dawirs S., Hedderich J., Dörner L., Nabavi A. // *Acta Neurochir Suppl.* – 2011. – T. 109 - 103-6c.
213. Meza D. Comparing high-resolution microscopy techniques for potential intraoperative use in guiding low-grade glioma resections / Meza D., Wang D., Wang Y., Borwege S., Sanai N., Liu J.T. // *Lasers Surg Med.* - 2015. - T. 47 - № 4 - 289-95c.
214. Millesi M. Analysis of the surgical benefits of 5-ALA–induced fluorescence in intracranial meningiomas: experience in 204 meningiomas / Millesi M. // *Journal of Neurosurgery.* – 2016. - T. 125 - № 6 - 1408–1419c.
215. Millesi M. Is Intraoperative Pathology Needed if 5-Aminolevulinic-Acid-Induced Tissue Fluorescence Is Found in Stereotactic Brain Tumor Biopsy? / Millesi M., Kiesel B., Wöhrer A., Mercea P.A., Bissolo M., Roetzer T., Wolfsberger S., Furtner J.,

Knosp E., Widhalm G. // *Neurosurgery* - 2020. - T. 86 - № 3 - 366-373c.

216. Miyatake S. Fluorescence of non-neoplastic, magnetic resonance imaging-enhancing tissue by 5-aminolevulinic acid: case report. / Miyatake S Kuroiwa T., Kajimoto Y., Miyashita M., Tanaka H., Tsuji M. // *Neurosurgery* - 2007. - T. 61 - № 5 - 1101-3c.

217. Moon J.H. Histopathological implications of ventricle wall 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence in the absence of tumor involvement on magnetic resonance images. / Moon J.H., Kim S.H., Shim J.K., Roh T.H., Sung K.S. // *Oncol Rep.* – 2016. - T. 36 - № 2 - 837-44c.

218. Moore G.E. Fluorescein as an Agent in the Differentiation of Normal and Malignant Tissues / Moore G.E. // *Science* - 1947. – T. 106 - № 2745 - 130-1c.

219. Morita M. Long-term survivors of glioblastoma multiforme: clinical and molecular characteristics / Morita M., Rosenblum M.K., Bilsky M.H., Fraser R.A., Rosenfeld M.R. // *J Neurooncol.* – 1996. – T. 27 - № 3 - 259-266c.

220. Morshed R.A. Molecular features and clinical outcomes in surgically treated low-grade diffuse gliomas in patients over the age of 60. / Morshed R.A., Han S.J., Hervey-Jumper S.L., Pekmezci M., Troncon I., Chang S.M., Butowski N.A., Berger M.S. // *J Neurooncol.* – 2019. - T. 141 - № 2 - 383-391c.

221. Morofuji Y. Skull metastasis of hepatocellular carcinoma successfully treated by intraoperative photodynamic diagnosis using 5-aminolevulinic acid: case report / Morofuji Y., Matsuo T., Toyoda K., Takeshita T., Hirose M., Hirao T., Hayashi Y., Tsutsumi K., Abe K., Nagata I. // *No Shinkei Geka.* - 2007. - T. 35 - № 9 - 913-8c.

222. Moseley M.E. Diffusion-weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in cat central nervous system / Moseley M.E., Cohen Y., Kucharczyk // *J. Radiology* - 1990. – T. 176 - № 2 - 439-445c.

223. Mrugala M.M. Advances and challenges in the treatment of glioblastoma: a clinician's perspective / Mrugala M.M. // *Discov Med.* - 2013. - T. 15 - №83 –221-30 C.

224. Mukherjee S. Craniotomy for recurrent glioblastoma: Is it justified? A comparative cohort study with outcomes over 10 years / Mukherjee S., Wood J., Liaquat

- I., Stapleton S.R., Martin A.J. // Clin Neurol Neurosurg. – 2020. - T. 188 – 105568c.
225. Munoz-Bendix C. Risk factors for in-brain local progression in elderly patients after resection of cerebral metastases / Munoz-Bendix C., Rapp M., Mijderwijk H. // Sci Rep – 2019. – T. 9 – 7431c.
226. Nabavi A. 5-ALA Recurrent Glioma Study Group. Five-aminolevulinic acid for fluorescence-guided resection of recurrent malignant gliomas: a phase ii study / Nabavi A., Thurm H., Zountsas B., Pietsch T., Lanfermann H., Pichlmeier U., Mehdorn M. // Neurosurgery - 2009. - T. 65 - № 6 - 1070-6c.
227. Nagaishi M. Rare clinical presentations of pleomorphic xanthoastrocytoma with a high proliferative index: Two case reports / Nagaishi M., Nakae R., Fujii Y., Inoue Y., Sugiura Y., Takano I., Tanaka Y., Suzuki K. // Medicine (Baltimore) - 2020. – T. 99 - № 3 – 18880c.
228. Nelles M. Functional hemispherectomy: postoperative motor state and correlation to preoperative DTI / Nelles M., Urbach H., Sassen R. // Neuroradiology - 2015. – T. 57 - № 11 - 1093-1102c.
229. Nickel K. The patients' view: impact of the extent of resection, intraoperative imaging, and awake surgery on health-related quality of life in high-grade glioma patients-results of a multicenter cross-sectional study / Nickel K., Renovanz M., König J., Stöckelmaier L., Hickmann A.K., Nadji-Ohl M. Coburger J. // Neurosurg Rev. - 2018. - T. 41 - № 1 - 207-219c.
230. Nossek E. Intraoperative mapping and monitoring of the corticospinal tracts with neurophysiological assessment and 3-dimensional ultrasonography-based navigation / Nossek E., Korn A., Shahar T., Kanner A.A., Yaffe H., Marcovici D., Ben-Harosh C., Ram Z. // J Neurosurg. – 2011. – T. 114 - № 3 - 738–46c.
231. Novotny A. Mechanisms of 5-aminolevulinic acid uptake at the choroid plexus / Novotny A., Xiang ., Stummer W., Teuscher N.S., Smith D.E., Keep R.F. // J Neurochem. – 2000. - T. 75 - № 1 - 321-8c.
232. OLIVECRONA H. The parasagittal meningiomas. / OLIVECRONA H. // J Neurosurg. – 1947. - T. 4 - № 4 - 327-41c.
233. Omidvari S. Long-term Survival of Six Patients with Glioblastoma

Multiforme: Case Series and Review of the Literature / Omidvari S., Nasrolahi H., Kani A.A. // Middle East Journal of Cancer – 2012. – T. 3 - 79-83c.

234. Omuro A. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review / Omuro A., DeAngelis L.M. // JAMA. - 2013. – T. 310 - № 17 - 1842-1850c.

235. Pala A. Diagnostic accuracy of intraoperative perfusion-weighted MRI and 5-aminolevulinic acid in relation to contrast-enhanced intraoperative MRI and 11C-methionine positron emission tomography in resection of glioblastoma: a prospective study / Pala A., Reske S.N., Eberhardt N., Scheuerle A., König R., Schmitz B., Beer A.J., Wirtz C.R., Coburger J. // Neurosurg Rev. – 2019. – T. 42 - № 2 - 471-479c.

236. Pamir M.N. 3 T ioMRI: the Istanbul experience / Pamir M.N. // Acta Neurochir Suppl. – 2011. – T. 109 - 131-7c.

237. Papayan G. V. Stereotactic fluorescence biospectroscopy in the diagnosis of brain glial neoplasms / Papayan G. V. // Topical issues of laser medicine – 2016. - 139–151c.

238. Parry P.V. Calcitriol enhances 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence and the effect of photodynamic therapy in human glioma / Parry P.V., Engh J.A. // Neurosurgery – 2014. - T. 74 - № 4 - 8-9c.

239. Parsa A.T. Prognostic significance of intracranial dissemination of glioblastoma multiforme in adults / Parsa A.T., Wachhorst S., Lamborn K.R. // J Neurosurg. - 2005. – T. 102 - № 4 - 622–628c.

240. Pastor J. Role of intraoperative neurophysiological monitoring during fluorescence-guided resection surgery / Pastor J. // Acta Neurochirurgica – 2013. - T. 155 - № 12 - 2201–2213c.

241. Peng Q. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research / Peng Q., Berg K., Moan J., Kongshaug M., Nesland J.M. // Photochem Photobiol. - 1997. - T. 65 - № 2 - 235-51c.

242. Pessina F. Maximize surgical resection beyond contrast-enhancing boundaries in newly diagnosed glioblastoma multiforme: is it useful and safe? A single institution retrospective experience / Pessina F., P. Navarra, Cozzi, Anna Maria Ascolese, Lorenzo Bello // Journal of Neuro-Oncology – 2017. – T. 135 - № 1 - 129–

139c.

243. Picart T. Is fluorescence-guided surgery with 5-ala in eloquent areas for malignant gliomas a reasonable and useful technique? / Picart T., Armoiry J., Berthiller C., Guyotat J. // *Neurochirurgie* – 2017. - T. 63 - № 3- 189–196c.

244. Pino M. New Hope in Brain Glioma Surgery: The Role of Intraoperative Ultrasound. A Review / Pino M., Imperato, A., Musca, I., Maugeri, R., Giammalva, G. R., Costantino, G., Graziano, F., Meli, F., Francaviglia, N., Iacopino, D. G., & Villa // *Brain Sciences* – 2018. - T. 8 - № 11 – 202c.

245. Pinsker M. Experiences with reoperation on recurrent glioblastoma multiforme / Pinsker M., Lumenta C. // *Zentralbl Neurochir.* - 2001. – T. 62 - № 2 - 43-47c.

246. Piquer J. Fluorescence-Guided Surgery and Biopsy in Gliomas with an Exoscope System / Piquer J. Jose L Llácer, Vicente Rovira , Pedro Riesgo , Ruben Rodriguez, Antonio Cremades // *BioMed Research International* - 2014. - 1–6c.

247. Potapov A.A. Intraoperative multimodal navigation including laser fluorescence spectroscopy in surgery of malignant brain tumors / Potapov A.A., Loshakov V. A., Usachev D.J. // *Materials of 14th European Congress of Neurosurgery, Rome, Italy, October 9-14, 2011.*

248. Potapov A.A. First experience in 5-ALA fluorescence-guided and endoscopically assisted microsurgery of brain tumors / Usachev D.J., Loshakov V.A. // *Med Las Applic.* - 2008. – T. 23 - № 4 - 202-208c.

249. Prada F. Identification of residual tumor with intraoperative contrast-enhanced ultrasound during glioblastoma resection / Prada F., Bene M.D., Fornaro R., Vetrano I.G., Martegani A., Aiani L., Sconfienza L.M., Mauri G., Solbiati L., Pollo B., DiMeco F. // *Neurosurgical Focus* – 2017. - T. 40 - № 3 - 7c.

250. Pujol S., Wells W., Pierpaoli C. The DTI Challenge: Toward Standardized Evaluation of Diffusion Tensor Imaging Tractography for Neurosurgery / Pujol S., Wells W., Pierpaoli C. // *J. Neuroimaging* – 2015. – T. 25 - № 6 - 875-882c.

251. Puppa A. Della 5-aminolevulinic acid fluorescence in high grade glioma surgery: Surgical outcome, intraoperative findings, and fluorescence patterns / Puppa A.

Della, Ciccarino P., Lombardi G., Rolma G., Cecchin D., & Rossetto M. // *BioMed Research International* - 2014. – 232-561c.

252. Rao G. Intraoperative MRI and Maximizing Extent of Resection / Rao G. // *Neurosurgery Clinics of North America* - T. 28 - № 4 - 477–485c.

253. 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 / Roder C., Bisdas S., Ebner F.H., Honegger J., Naegele T., Ernemann U., Tatagiba M. // *Eur J Surg Oncol.* 2014 Mar;40(3):297-304. doi: 10.1016/j.ejso.2013.11.022. Epub 2013 Dec 19.

254. Roessler K. Intraoperative tissue fluorescence using 5-aminolevulinic acid (5-ALA) is more sensitive than contrast MRI or amino acid positron emission tomography (18F-FET PET) in glioblastoma surgery / Roessler K., Becherer A., Donat M., & Cejna M. // *Neurological Research* – 2012. - T. 6412 - 3–6c.

255. Roy B. Comparative evaluation of 3-dimensional pseudocontinuous arterial spin labeling with dynamic contrast-enhanced perfusion magnetic resonance imaging in grading of human glioma / Roy B., Awasthi R., Bindal A., Sahoo P., Kumar R., Behari S., Ojha B.K., Husain N., Pandey C.M., Rathore R.K., Gupta R.K. // *J. Comput Assist Tomogr.* - 2013. – T. 37 - № 3 - 321-6c.

256. Rudà R. Seizure control following radiotherapy in patients with diffuse gliomas: a retrospective study / Rudà R., Magliola U., Bertero L., Trevisan E., Bosa C., Mantovani C., Ricardi U., Castiglione A., Monagheddu C., Soffietti R. // *Neuro Oncol.* - 2013. – T. 15 - № 12 - 1739-49c.

257. Sanai N. Morbidity profile following aggressive resection of parietal lobe gliomas / Sanai N., Martino J., & Berger M. S. // *Journal of Neurosurgery* – 2012. – T. 116 - № 6), 1182–6.

258. Sanai N. Intraoperative confocal microscopy in the visualization of 5-aminolevulinic acid fluorescence in low-grade gliomas / Sanai N., Snyder L.A., Honea N.J., Coons S.W., Eschbacher J.M., Smith K.A., Spetzler R.F. // *J. Neurosurg.* - 2011. - T. 115 - № 4 - 740-8c.

259. Sato T. Correlation between uncinat fasciculus and memory tasks in healthy

individual using diffusion tensor tractography / Sato T., Maruyama N., Hoshida T., Minato K. // Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS. – 2012. - 424-427c.

260. Savelieva T.A. Combined spectroscopic method for studying highly scattering biological media. Ph.D. Thesis. A.M. Prokhorov General Physics Institute: Russia, Moscow, 2013.

261. Schatlo B. Outcomes after combined use of intraoperative MRI and 5-aminolevulinic acid in high-grade glioma surgery / Schatlo B., Fandino, J., Smoll, N. R., Wetzel, O., Remonda, L., Marbacher, S., Perrig, W., Landolt, H., & Fathi, A. R. // Neuro-oncology – 2015. – T. 1 - № 12 - 1560–1567c.

262. Scheichel F. Fluorescence-guided resection of extracranial soft tissue tumour infiltration in atypical meningioma / Scheichel F., Ungersboeck K., Kitzwoegerer M., Marhold F. // Acta Neurochir (Wien) - 2017. – T. 159 - № 6 - 1027-1031c.

263. Scherer H.J. The forms of growth in gliomas and their practical significance / Scherer H.J. // Brain – 1940. – T. 63 - № 1 - 1–35c.

264. Schipmann S. Combination of ALA-induced fluorescence-guided resection and intraoperative open photodynamic therapy for recurrent glioblastoma: case series on a promising dual strategy for local tumor control / Schipmann S., Michael Mütter, Louise Stögbauer, Sebastian Zimmer, Benjamin Brokinkel, Walter Stummer // J Neurosurg – 2020. – T. 24 - 1-11c.

265. Schipmann S., Schwake M., Suero Molina E., Stummer W. Markers for Identifying and Targeting Glioblastoma Cells during Surgery / Schipmann S., Schwake M., Suero Molina E., Stummer W. // J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg. - 2019. – T. 80 - № 6 - 475-487c.

266. Schwake M. In-Vitro Use of 5-ALA for Photodynamic Therapy in Pediatric Brain Tumors / Schwake M., Nemes A., Dondrop J., Schroeteler J., Stummer W., Ewelt C. // Neurosurgery - 2018. - T. 83 - № 6 - 1328-1337c.

267. Schucht P. Gross total resection rates in contemporary glioblastoma surgery: Results of an institutional protocol combining 5-aminolevulinic acid intraoperative fluorescence imaging and brain mapping / Schucht P., Beck J., Abu-Isa J., Anderegg

L., Murek M., Seidel K., Raabe A. // *Neurosurgery* – 2012. – T. 71 - № 5 - 927–935c.

268. Schucht P. Paradoxical fluorescence after administration of 5-aminolevulinic acid for resection of a cerebral melanoma metastasis / Schucht P., Beck J., Vajtai I., Raabe A. // *Acta Neurochir (Wien)* - 2011. - T. 153 - № 7 - 1497-9c.

269. Seidel K. The warning-sign hierarchy between quantitative subcortical motor mapping and continuous motor evoked potential monitoring during resection of supratentorial brain tumors / Seidel K., Beck J., Stieglitz L., Schucht P., Raabe A. // *J Neurosurg.* – 2013. – T. 118 - № 2 - 287–96c.

270. Shiban E. Intraoperative subcortical motor evoked potential stimulation: how close is the corticospinal tract? / Shiban E., Krieg S.M., Haller B., Buchmann N., Obermueller T., Boeckh-Behrens T., Wostrack M., Meyer B., Ringel F. // *J Neurosurg.* – 2015. – T. 123 - № 3 - 711–20c.

271. Shofty B. 5-ALA-assisted stereotactic brain tumor biopsy improve diagnostic yield / Shofty B., Richetta C., Haim O., Kashanian A., Gurevich A., Grossman R. // *Eur J Surg Oncol.* – 2019. – T. 45 - № 12 - 2375-2378c.

272. Silva S.M. Neuroanatomy: The added value of the Klingler method. /Silva S.M., Andrade J.P. // *Ann. Anat.* - 2016. - 287–96c.

273. Simpson D. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment / Simpson D. // *J. Neurol Neurosurg Psychiatry.* - 1957. - T. 20 - № 1 - 22-39c.

274. Skjøth-Rasmussen J. The use of 5-ALA to assist complete removal of residual non-enhancing part of childhood medulloblastoma: a case report / Skjøth-Rasmussen J., Lars Bøgeskov // *Child's Nervous System* – 2015. – T. 31 - № 11 - 2173–2177c.

275. Skurdal M.J. Voxel-Wise Perfusion Assessment in Cerebral White Matter with PCASL at 3T; Is It Possible and How Long Does It Take? / Skurdal M.J., Bjørnerud A., van Osch M.J., Nordhøy W., Lagopoulos J., Groote I.R. // *PLoS One* - 2015. – T. 10 - № 8 – 0135596c.

276. Slotty P.J. The impact of improved treatment strategies on overall survival in glioblastoma patients /Slotty P.J., Siantidis B., Beez T., Steiger H.J., Sabel M. // *Acta*

Neurochir (Wien) - 2013. – T. 155 - № 6 - 959-63c.

277. Solomons M.R., Jaunmuktane Z., Weil R.S. Seizure outcomes and survival in adult low-grade glioma over 11 years: living longer and better / Solomons M.R., Jaunmuktane Z., Weil R.S. // Neurooncol Pract. - 2020. – T. 7 - № 2 - 196-201c.

278. Song X. Diffusion tensor imaging and diffusion tensor imaging-fibre tractograph depict the mechanisms of Broca-like and Wernicke-like conduction aphasia / Song X., Dornbos D., Lai Z., Zhang Y., Li T., Chen H., Yang Z. // Neurol Res. - 2011. – T. 33 - № 5 - 529–35c.

279. Song S. W. 5-Aminolevulinic Acid Fluorescence Discriminates the Histological Grade of Extraventricular Neurocytoma / Song S.W., Young-Hoon Kim // Brain Tumor Research and Treatment – 2012. - T. 1 - № 1 – 45c.

280. Stark A.M., Nabavi A., Mehdorn H.M., Blömer U. Glioblastoma multiforme-report of 267 cases treated at a single institution / Stark A.M., Nabavi A., Mehdorn H.M., Blömer U. // Surg Neurol. 2005. – T. 63 - № 2 - 162-9c.

281. Stepp H. ALA and malignant glioma: fluorescence-guided resection and photodynamic treatment / Stepp H., Beck T., Pongratz T., Meinel T., Kreth F.W., Tonn J.Ch., Stummer W. // J Environ Pathol Toxicol Oncol. – 2007. – T. 26 - № 2 - 157-64c.

282. Stummer W. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial /Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T., Wiestler O.D., Zanella F., Reulen H.J., Group AL-GS // Lancet - 2006. - Oncol - T. 7 - 392-401c.

283. Stummer W. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multi-forme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients / 381. Stummer W., Novotny A., Stepp H., Goetz C., Bise K., Reulen H.J.: // J. Neurosurg - 2000. – T. 93 - 1003–1013c.

284. Stummer W. 5-Aminolevulinic Acid-derived Tumor Fluorescence: The Diagnostic Accuracy of Visible Fluorescence Qualities as Corroborated by Spectrometry and Histology and Postoperative Imaging / Stummer W., Tonn J.C., Goetz C., Ulrich W., Stepp H., Bink A., Pietsch T., Pichlmeier U. // Neurosurgery - 2014. – T. 74 - № 3 - 309-319c.

285. Stummer W., Suero Molina E. Fluorescence Imaging/Agents in Tumor Resection /Stummer W., Suero Molina E. // *Neurosurg Clin N Am.* – 2017. – T. 28 - № 4 - 569-583c.

286. Stupp R. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial / Stupp R., Hegi M.E., Mason W.P. // *Lancet Oncol.* - 2009. – T. 10 - № 5 - 459-466c.

287. Suero Molina E.J. Aquaporin-4 in glioma and metastatic tissues harboring 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence / Suero Molina E.J., Ardon H., Schroeteler J., Klingenhöfer M., Holling M., Wölfer J., Fischer B., Stummer W., Ewelt C. // *Clin Neurol Neurosurg.* – 2013. - T. 115 - № 10 - 2075-81c.

288. Takeda J. 5-ALA fluorescence-guided endoscopic surgery for mixed germ cell tumors / Takeda J., Nonaka M., Li Y., Komori Y., Kamei T., Iwata R., Hashiba T., Yoshimura K., Asai A. // *J. Neurooncol.* - 2017. - T. 134 - № 1 - 119-124c.

289. Takahashi K. Enhanced expression of coproporphyrinogen oxidase in malignant brain tumors: CPOX expression and 5-ALA-induced fluorescence /Takahashi K., Ikeda N., Nonoguchi N., Kajimoto Y., Miyatake S., Hagiya Y., Ogura S., Nakagawa H., Ishikawa T., Kuroiwa T. // *Neuro Oncol.* – 2011. - T. 13 - № 11 - 1234-43c.

290. Tamimi A.F. Epidemiology and Outcome of Glioblastoma / Tamimi A.F., Juweid M. // *EditorsIn: De Vleeschouwer S, editor. Source Glioblastoma. Brisbane (AU): Codon Publications - 2017. - Chapter 8.*

291. Therese A. Dolecek CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2005–2009 / Therese A. Dolecek, Jennifer M. Propp // *Neuro Oncol.* - 2012. – T. 14 - №5 - 1-57c.

292. Tsugu A. Impact of the combination of 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence with intraoperative magnetic resonance imaging-guided surgery for glioma / Tsugu A., Ishizaka H., Mizokami Y., Osada T., Baba T., Yoshiyama M., Nishiyama J., Matsumae M. // *World Neurosurg.* - 2011. - T. 76 - № (1-2) - 120-7c.

293. Unsgaard G. Intra-operative 3D ultrasound in neurosurgery /Unsgaard G., Rygh O.M., Selbekk T., Müller T.B., Kolstad F., Lindseth F., Hernes T.A. // *Acta*

Neurochir (Wien). - 2006. – T. 148 - № 3 - 235-53c.

294. Utsuki S. Histological examination of false positive tissue resection using 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence guidance / Utsuki S. // *Neurologia medico-chirurgica* – 2007. - T. 47 - № 5 - 210-3c.

295. Valdés P.A. Combined fluorescence and reflectance spectroscopy for in vivo quantification of cancer biomarkers in low- and high-grade glioma surgery / Valdés P.A., Kim A., Leblond F., Conde O.M., Harris B.T., Paulsen K.D., Wilson B.C., Roberts D.W. // *J. Biomed Opt.* - 2011. - T. 16 № 11 – 116007c.

296. Valdes P.A. 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX (ALA-PpIX) fluorescence guidance in meningioma surgery /Valdes P.A., Millesi M., Widhalm G., Roberts D.W. // *J. Neurooncol.* – 2019. - T. 141 - № 3 - 555-565c.

297. Valli D. Development of a Simulation Model for Fluorescence-Guided Brain Tumor Surgery /Valli D., Belykh E., Zhao X., Gandhi S., Cavallo C., Martirosyan N.L., Nakaji P., Lawton M.T., Preul M.C.// *Front Oncol.* - 2019 –T. 16 - № 9 – 748c.

298. Vassal F. Combined DTI Tractography and Functional MRI Study of the Language Connectome in Healthy Volunteers: Extensive Mapping of White Matter Fascicles and Cortical Activations / Vassal F., Schneider F., Boutet C., Jean B., Sontheimer A., Lemaire J.J. Zuo X-N// *PLoS One* – 2016. – T. 11 - № 3 – 0152614c.

299. Vermandel M. Comparison of different treatment schemes in 5-ALA interstitial photodynamic therapy for high-grade glioma in a preclinical model: An MRI study /Vermandel M., Quidet M., Vignion-Dewalle A.S., Leroy H.A., Leroux B., Mordon S., Reyns N.// *Photodiagnosis Photodyn Ther.* – 2019. - T. 25 - 166-176c.

300. Wadiura L. Influence of Corticosteroids and Antiepileptic Drugs on Visible 5-Aminolevulinic Acid Fluorescence in a Series of Initially Suspected Low-Grade Gliomas Including World Health Organization Grade II, III, and IV Gliomas /Wadiura L., Mischkulnig M., Hosmann A., Borkovec M., Kiesel B., Rötzer T., Mercea P.A., Furtner J., Hervey-Jumper S., Rössler K., Berger M.S., Widhalm G // *World Neurosurg.* – 2020- T. 20 - 30261-8c.

301. Wang N., Xie S.Y., Liu H.M., Chen G.Q., Zhang W.D. Arterial Spin Labeling for Glioma Grade Discrimination: Correlations with IDH1 Genotype and 1p/19q

Status /Wang N., Xie S.Y., Liu H.M., Chen G.Q., Zhang W.D // *Transl Oncol.* – 2019. – T. 12 - № 5 - 749-756c.

302. Watson J.R., Martirosyan N., Lemole G.M., Trouard T.P., Romanowski M. Intraoperative brain tumor resection with indocyanine green using augmented microscopy / Watson J.R., Martirosyan N., Lemole G.M., Trouard T.P., Romanowski M. // *J. Biomed Opt.* - 2018 – T. 23 - № 9 - 1-4c.

303. Wang X. Subcomponents and connectivity of the superior longitudinal fasciculus in the human brain / Wang X., Pathak S., Stefanescu L., Yeh F.C., Li S., Fernandez-Miranda J.C. // *Brain Struct. Funct.* – 2016. – T. 221 - № 4 - 2075-2092c.

304. Whiting B. B. Combined use of minimal access craniotomy, intraoperative magnetic resonance imaging and awake functional mapping for the resection of gliomas in 61 patients / Whiting B. B., Bryan S. Lee, Vaidehi Mahadev, Hamid Borghei-Razavi // *Journal of Neurosurgery* - 2019. – T. 25 - 1-9c.

305. Whitson W.J. Confocal microscopy for the histological fluorescence pattern of a recurrent atypical meningioma: case report / Whitson W.J., Valdes P.A., Harris B.T., Paulsen K.D., Roberts D.W // *Neurosurgery* – 2011. – T. 68 - 1768-1772c.

306. Widhalm G. Strong 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence is a novel intraoperative marker for representative tissue samples in stereotactic brain tumor biopsies / Widhalm G., Georgi Minchev, Adelheid Woehrer, Matthias Preusser, Barbara Kiesel, Julia Furtner, Aygül Mert, Antonio Di Ieva, Boguslaw Tomanek, Daniela Prayer, Christine Marosi, Johannes A Hainfellner, Engelbert Knosp, Stefan Wolfsberger // *Neurosurgical Review* – 2011. – T. 35 - № 3- 381–391c.

307. Widhalm G. 5-Aminolevulinic Acid Induced Fluorescence Is a Powerful Intraoperative Marker for Precise Histopathological Grading of Gliomas with Non-Significant Contrast-Enhancement / Widhalm G., Barbara Kiesel, Adelheid Woehrer, Tatjana Traub-Weidinger, Matthias Preusser, Christine Marosi, Daniela Prayer, Johannes A. Hainfellner, Engelbert Knosp, Stefan Wolfsberger // *PLoS ONE*. Edited by J. A. Coles – 2013. - T. 8 - № 10- 76988c.

308. Wilbers E. Usefulness of 5-ALA (Gliolan®)-derived PPX fluorescence for demonstrating the extent of infiltration in atypical meningiomas / Wilbers E., Hargus G.,

- Wölfer J., Stummer W. // *Acta Neurochir (Wien)* - 2014. – T. 156 - № 10 - 1853-1854c.
309. Winther T.L., Torp S.H. Significance of the Extent of Resection in Modern Neurosurgical Practice of World Health Organization Grade I Meningiomas /Winther T.L., Torp S.H. // *World Neurosurg.* - 2017. - T. 99 - 104-110c.
310. Wu J.S. Clinical evaluation and follow-up outcome of diffusion tensor imaging-based functional neuronavigation: a prospective, controlled study in patients with gliomas involving pyramidal tracts / Wu J.S., Liang-Fu Zhou, Wei-Jun Tang, Ying Mao, Jin Hu, Yan-Yan Song, Xun-Ning Hong, Gu-Hong Du // *Neurosurgery.* - 2007. - T. 61 – 935–949c.
311. Wu J.S. Prospective comparison of functional magnetic resonance imaging and intraoperative motor evoked potential monitoring for cortical mapping of primary motor areas / Wu J.S., Zhou L.F., Chen W., Lang L.Q., Liang W.M., Gao G.J., Mao Y. // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* - 2005. - T. 43 - № 17 - 1141-5c.
312. Wu D. The real-time ultrasonography for fusion image in glioma neurosurgery / Wu D., Wen He, Song Lin, Chi-Shing Zee, Bo Han // *Clinical Neurology and Neurosurgery* – 2018. – T. 175, 84–90c.
313. Yagi R. Intraoperative 5-aminolevulinic acid-induced photodynamic diagnosis of metastatic brain tumors with histopathological analysis /Yagi R., Kawabata S., Ikeda N., Nonoguchi N., Furuse M., Katayama Y., Kajimoto Y., Kuroiwa T. // *World J. Surg Oncol.* - 2017. – T. 15 - № 1 – 179c.
314. Yamada S., Muragaki Y., Maruyama T., Komori T., Okada Y. Role of neurochemical navigation with 5-aminolevulinic acid during intraoperative MRI-guided resection of intracranial malignant gliomas/ *Clin Neurol Neurosurg.* - 2015. - T. 130 - 134-9c.
315. Yamamoto J., Kitagawa T., Akiba D., Nishizawa S. 5-Aminolevulinic Acid-Induced Fluorescence in Cerebellar Primary Central Nervous System Lymphoma: A Case Report and Literature Review /Yamamoto J., Kitagawa T., Akiba D., Nishizawa S. // *Turk Neurosurg.* - 2015. – T. 25 - № 5 - 796-800c.
316. Yordanova Y. N. Supratotal resection of diffuse gliomas – an overview of its multifaceted implications / Yordanova, Y. N. and Duffau H. // *Neurochirurgie* – 2011

– T. 63 - № 3 - 243–249c.

317. Yu X. Stereotactic biopsy for intracranial space-occupying lesions: clinical analysis of 550 cases / Yu X., Liu Z., Tian Z. // *Stereotact Funct Neurosurg* – 2000. – T. 75 - 103–8c.

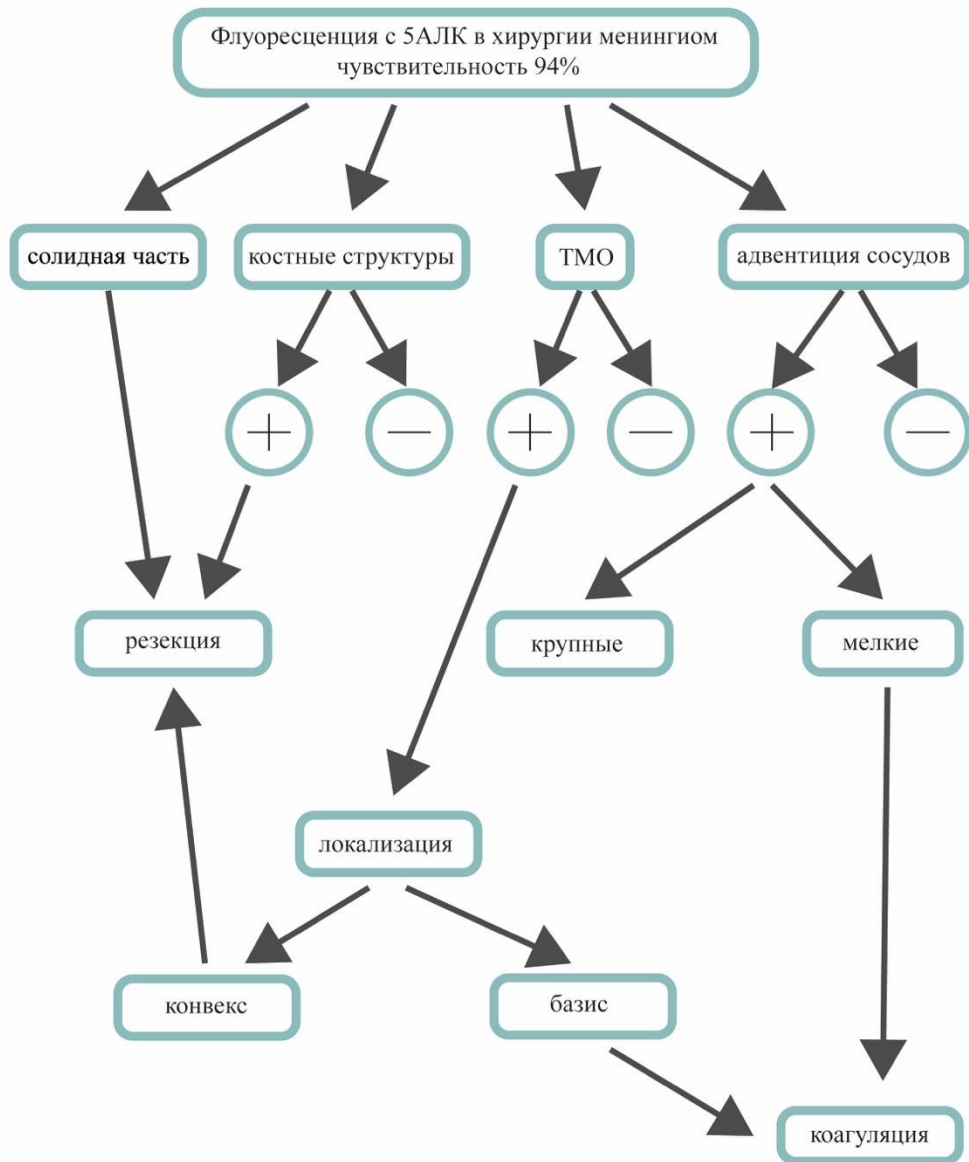
318. Zemmoura I. How Klingler's dissection permits exploration of brain structural connectivity? An electron microscopy study of human white matter / Zemmoura I., Blanchard E., Raynal P.I., Rousselot-Denis C., Destrieux C., Velut S. // *Brain Struct. Funct.* - 2016 T. 221 - № 5 - 2477-86c.

Приложение А

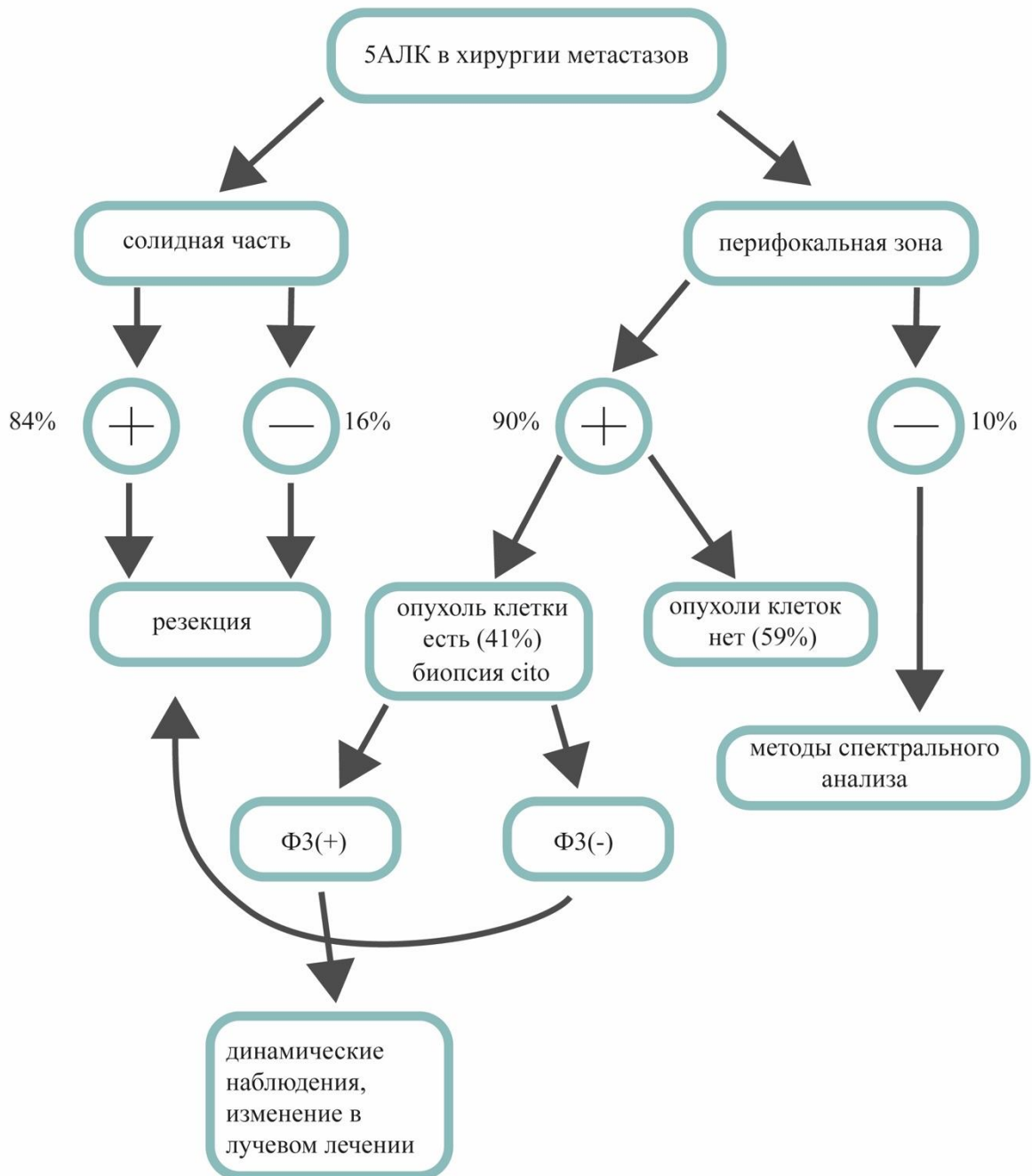
АЛГОРИТМЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ НАВИГАЦИИ В ХИРУРГИИ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Алгоритм 1

Флуоресцентная диагностика менингиом головного мозга

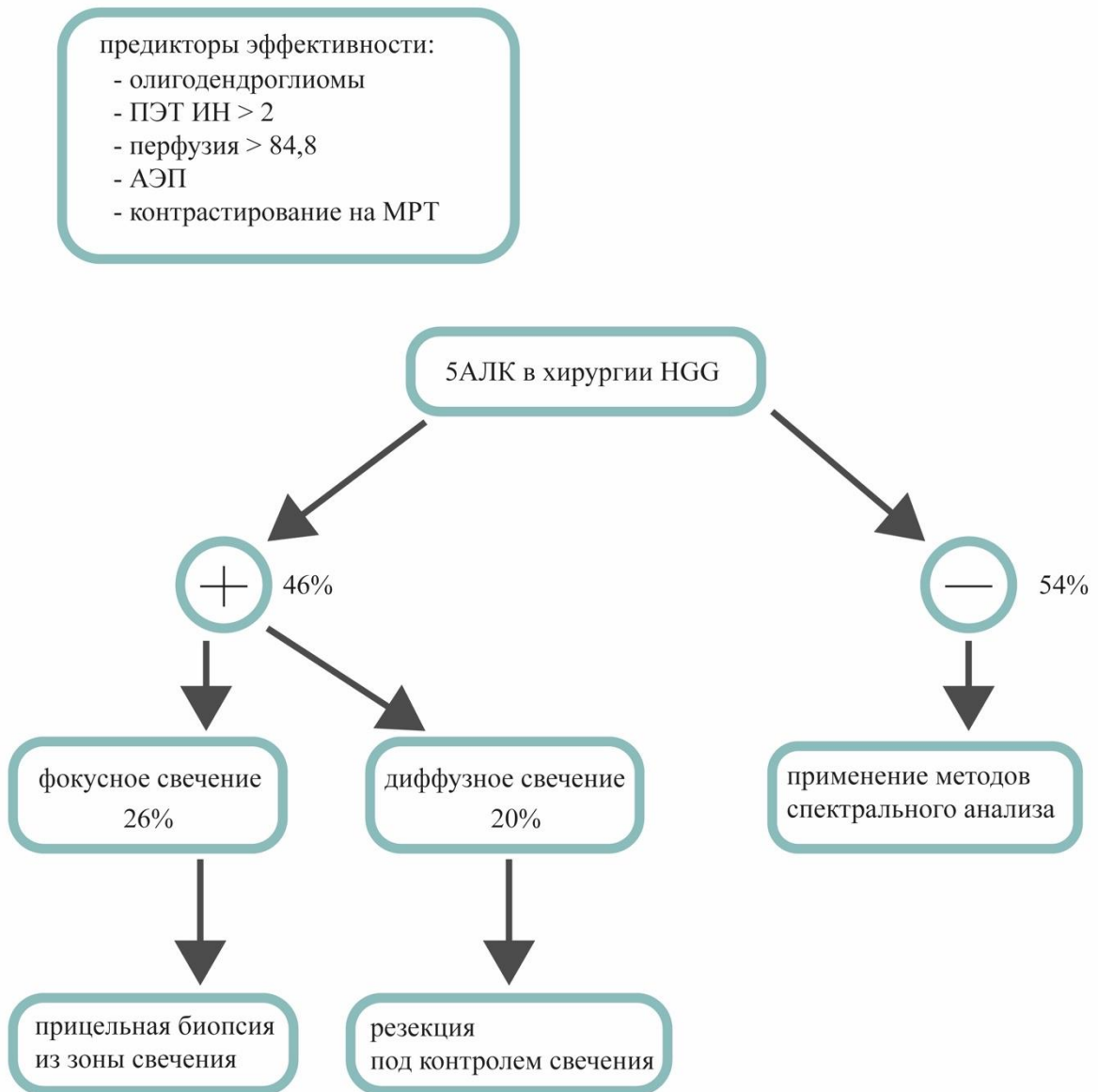


Алгоритм 2

Флуоресцентная диагностика в хирургии
метастазов в головном мозге

Алгоритм 3

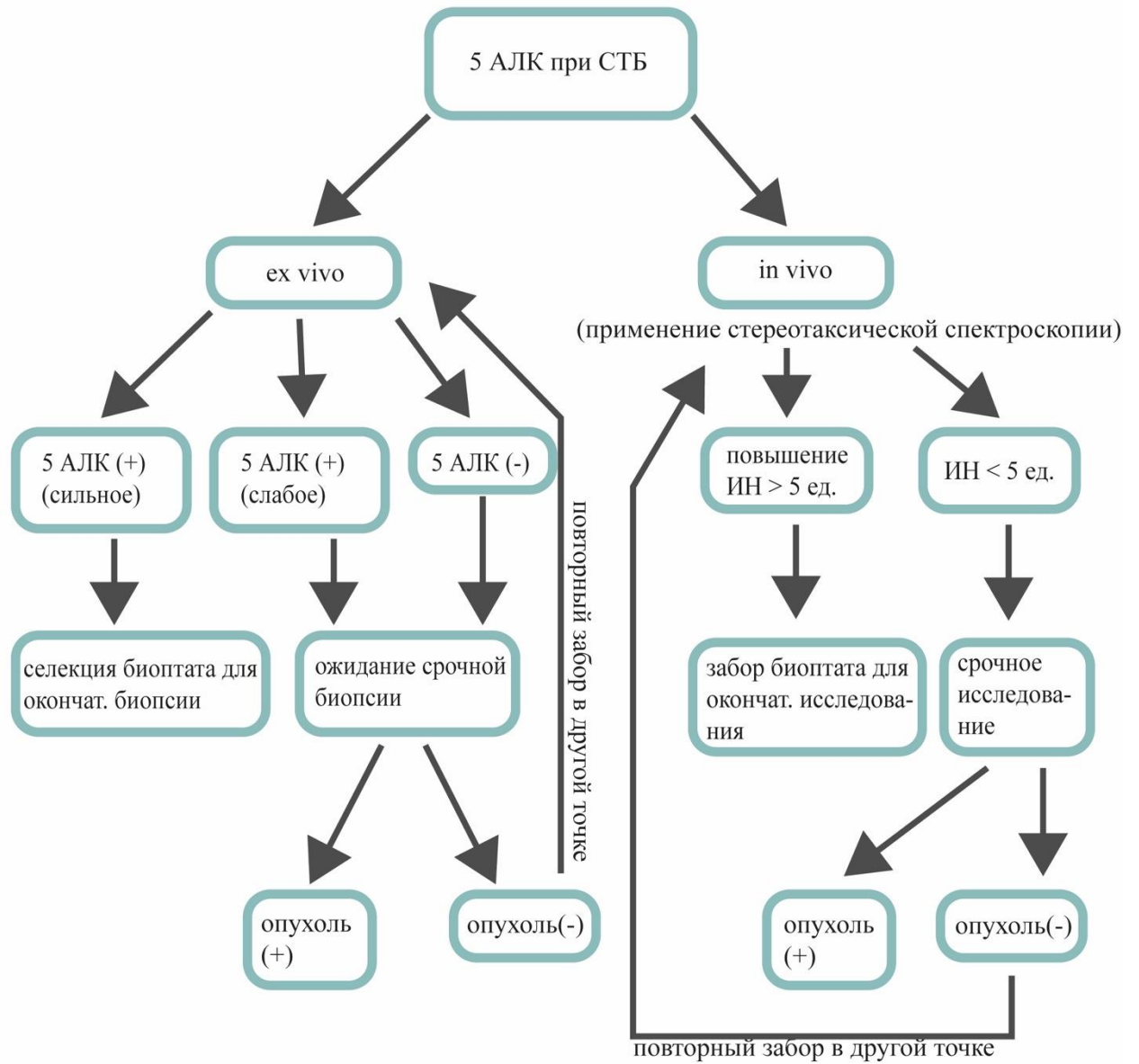
Флуоресцентная диагностика в хирургии
глиом низкой степени злокачественности



Алгоритм 5

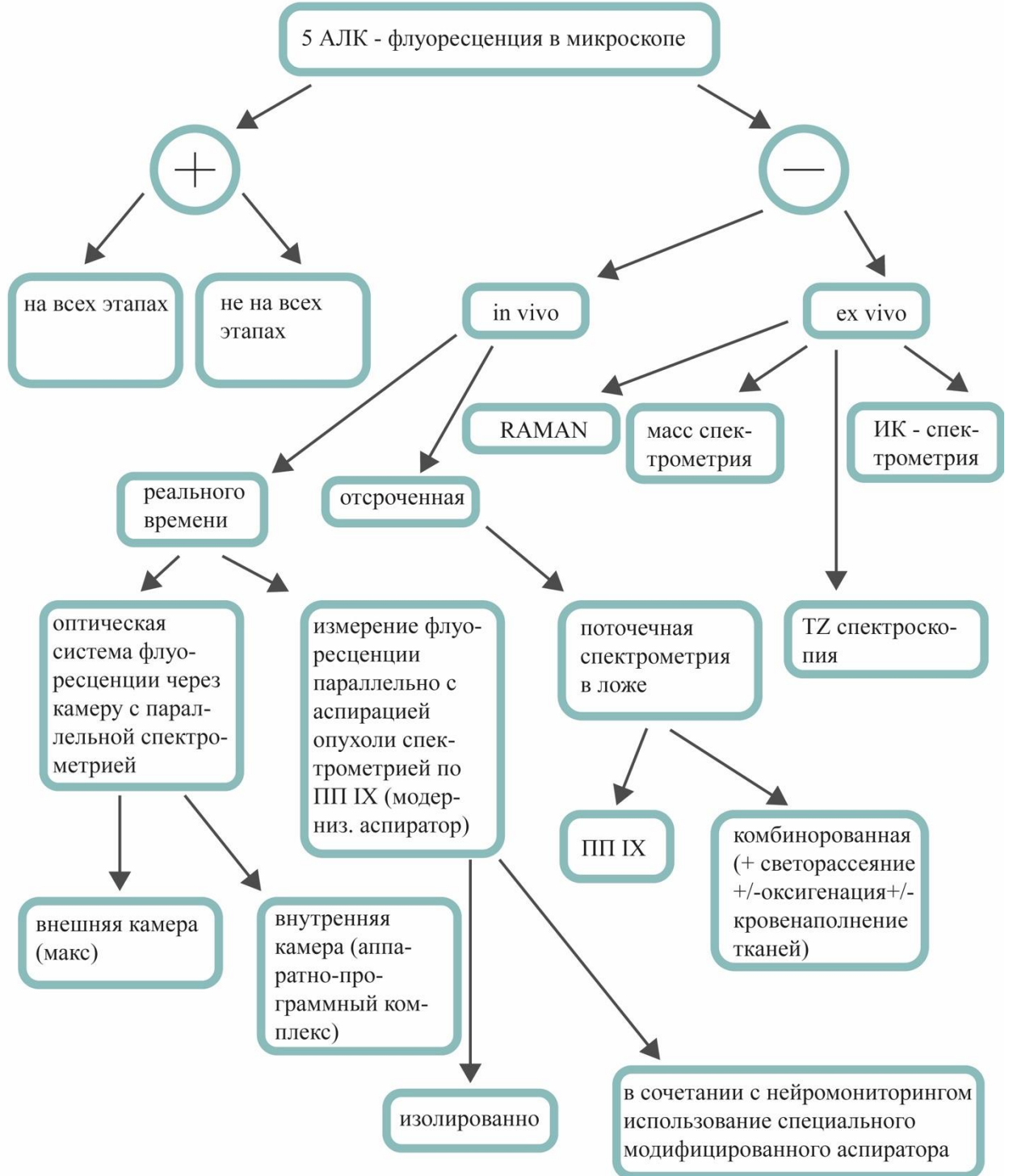
Флуоресцентная диагностика при стереотаксической биопсии

Максимальная чувствительность: HGG и лимфомы



Алгоритм 6

Применение методов спектрального анализа при нефлуоресцирующих опухолях *ex vivo*/ *in vivo*



Приложение Б

Таблица - Список публикаций о применении 5-АЛК в хирургии метастатических опухолей головного мозга.

Автор, год публикации	Количество пациентов	5-АЛК +	%	Факторы	Оценка ПФ/ОФ
S. Utsuki et al. 2007 [402]	11	9 из 11	82%	Не изучались	ПФ в 9 из 11 (82%). ПФ в 9 из 9 5-АЛК ⁺ -опухолей. Опухолевые клетки 2 из 27 образцов.
Куржупов М. И. 2011 [30]	34	98 образцов из 101	92,5%	Не изучались	Не изучались
M. Kamp et al. 2012 [212]	52	32 из 52	62%	Гистология и первичный очаг не влияют	ОФ в 24 из 52 (46%). ОФ в 24 из 32 (75%) 5-АЛК ⁺ -опухолей. Опухолевые клетки в 6 из 18 образцов (33%).
E. Suero Molina et al. 2013 [386]	7	7 из 7	100%	Не изучались	Не изучались
J. Coburger et al. 2014 [112]	11	8 из 11	73%	Не изучались	После исключения 3 пациентов с 5-АЛК-опухолями: чувствительность ПФ 88%, специфичность 75%.
S. Marbacher et al. 2014 [263]	65	34 из 65	52%	Не изучались	Не изучались
M. Kamp et al. 2016 [213]	84	34 из 84	40,5%	Гистология и первичный очаг не влияют на интенсивность. Характер флуоресценции не влияет на радикальность резекции (контроль – МРТ)	Не изучались
F. Certo et al. 2017	33	28 из 33	84,8%	Не изучались	ОФ в 5 из 28 5-АЛК ⁺ -опухолей. ПФ в 15 из 28 5-АЛК ⁺ -опухолей. Опухолевые клетки в 1 из 5 образцов (20%).
R. Yagi et al. 2018 [434]	16	5 из 16	33%	Не изучались	ПФ в 14 из 16 (87,5%), в 5 из 5 5-АЛК ⁺ -опухолей. Чувствительность ПФ 92%, специфичность 25%.
Итого:	313	255 из 380			67,1%

Примечания - ПФ – перифокальная флуоресценция, ОФ – остаточная флуоресценция, 5-АЛК + -опухоль - опухоль с наличием видимой флуоресценции при применении 5-аминолевулиновой

кислоты, 5-АЛК⁻ опухоль - опухоль с отсутствием видимой флуоресценции при применении 5-аминолевулиновой кислоты.

Приложение В

Таблица - Данные о пациентах с флуоресценцией интракраниальных метастатических узлов.

Характеристика	Число наблюдений
Пол	Мужчины 29 (46,0%) Женщины 34 (54,0%)
Возраст (лет) Медиана Диапазон	57 37-79
ЕСОГ 0 1 2 3 4	6 (9,5%) 39 (61,9%) 15 (23,8%) 2 (3,1%) 1 (1,7%)
Количество очагов Единичные 2-3 ≥4	46 (73,0%) 16 (25,3%) 1 (1,7%)
Локализация (удаляемые очаги) Лобная доля Теменная доля Затылочная доля Височная доля Гемисфера мозжечка	25 (34,7%) 19 (26,4%) 8 (11,1%) 12 (16,7%) 8 (11,1%)
Первичный очаг (число пациентов) Рак легких Рак молочной железы Рак почки Колоректальный рак Меланома Рак шейки матки Рак пищевода Рак яичников Рак губы Рак мочевого пузыря	24 (38,1%) 19 (30,2%) 7 (11,1%) 4 (6,3%) 4 (6,3%) 1 (1,6%) 1 (1,6%) 1 (1,6%) 1 (1,6%) 1 (1,6%)

Гистология (удаляемые очаги)	
Аденокарцинома	25 (34,7%)
Меланома	4 (5,6%)
Крупноклеточный рак	1 (1,3%)
Плоскоклеточный рак	3 (4,2%)
Мелкоклеточный рак	3 (4,2%)
Низкодифференцированный рак	4 (5,6%)
Другое	32 (44,4%)
Количество наблюдений	
Впервые выявленные	55 (87,3%)
Повторные операции	8 (12,7 %)
Всего:	63 (100%)

Приложение Г. Сравнительный анализ чувствительности метаболической навигации при микрохирургическом удалении глиом головного мозга низкой степени злокачественности, высокой степени злокачественности, интракраниальных менингиом и метастазов.

Гистология	Число случаев	5 АЛК+	5 АЛК-
LGG (n=56)		26 (46,4%)	30 (53,6%)
Астроцитома пилоидная Grade I	3	3 (100%)	0 (0%)
Астроцитома диффузная Grade II	24	6 (25%)	18 (75%)
Астроцитома гемистоцитарная Grade II	3	3 (100%)	0 (0%)
Гангиоастроцитома Grade II	1	0 (0%)	1 (100%)
Инфантильная десмопластическая ганглиоглиома	1	1 (100%)	0 (0%)
Олигоастроцитома Grade II*	16	8 (50%)	8 (50%)
Олигодендроглиома Grade II	6	3 (50%)	3 (50%)
Плеоморфная ксантоастроцитома Grade II	2	2 (100%)	0 (0%)
HGG (n=164)		143 (87,1%)	21 (12,9%)
Анапластическая астроцитома Grade III	29	19 (65,5%)	10 (34,5%)
Анапластическая олигоастроцитома* Grade III	8	5 (62,5%)	3 (37,5%)

Анапластическая олигодендроглиома Grade III	6	4 (66,7%)	2 (33,3%)
Глиобластома Grade IV	115	108 (94%)	7 (6%)
Глиосаркома Grade IV	6	6 (100%)	0 (0%)
Менингиомы (n=101)		95 (94,05%)	6 (5,95%)
Grade I	78	75 (96,2%)	3 (3,8%)
Grade II	21	18 (85,7%)	3 (14,3%)
Grade III	2	2 (100%)	0 (0%)
Интракраниальные метастазы, солидная часть (n=63)**		55 (87,3%)	8 (12,7%)
Рак лёгкого	24	21 (87,5%)	3 (12,5%)
Рак молочной железы	19	17 (89,4%)	2 (10,6%)
Прочие метастазы	20	17 (85%)	3 (15%)
ИТОГО ВСЕХ ОПУХОЛЕЙ (микрохирургия):		384	302 (78,7%) 82 (21,3%)

**Примечание - поскольку проводился ретроспективный анализ материала с 2012 по 2020 годы то у части пациентов, оперированных до 2016 года, отмечается гистология смешанных глиом – олигоастроцитомы и анапластические олигоастроцитомы.*

***Примечание – у пациентов с интракраниальными метастазами (63 человека) было 72 очага – в таблице приведены данные по пациентам в целом, далее в соответствующей главе показана флуоресценция по очагам.*

Приложение Д. (Стр . 108)

Таблица 23 - Общие данные о пациентах с глиомами Grade I-III с прицельной биопсией в анапластическом свеящемся фокусе (n=27).

Пацие нт No.	Возра ст	Пол	Гистология	Grade	Локали зация	Степе нь свече ния	Количество биоптатов N
1	44	Ж	Диффузная астроцитомы	II	Левая лобная	3	2
2	19	М	Пилоидная астроцитомы	I	ЗЧЯ Левая лобно- височн ая	1	2
3	25	М	Диффузная астроцитомы	II		0	2
4	59	М	Анапластическ ая олигоастроцит омы	III	Правая лобная	1	2
5	40	М	Анапластическ ая олигодендрогл иомы	III	Левая лобно- височн ая	1	2
6	53	Ж	Диффузная астроцитомы	II	Правая лобная	0	2
7	30	М	Гемистоцитарн ая астроцитомы	II	Левая височн ая	3	2
8	66	М	Олигоастроцит омы	II	Правая височн ая	0	2
9	23	М	Анапластическ ая олигоастроцит омы	III	Левая лобная	3	2
10	26	Ж	Гемистоцитарн ая астроцитомы	II	Левая лобная	3	2
11	33	Ж	Диффузная астроцитомы	II II	Правая лобная	0 2	2 2

12	18	М	Десмопасти- ческая инфантиль- ная ганглиогли- ома		Лобно- теменн- о- височн- ая область слева		
13	23	Ж	Анапластичес- кая олигоастроцит- ома	III	Левая лобная	2	2
14	25	Ж	Пилоидная астроцитома	I	Левая височн- ая	1	2
15	58	М	Диффузная астроцитома	II	Левая височн- ая	0	2
16	41	М	Анапластичес- кая олигоастроцит- ома	III	Правая лобная	1	2
17	29	М	Олигоастроцит- ома	II	Правая лобная	0	2
18	26	М	Пилоидная астроцитома	I	Правая лобная	2	2
19	28	М	Диффузная астроцитома	I	Левая лобная	0	2
20	24	М	Олигоастроцит- ома	II	Правая лобная	0	2
21	54	М	Анапластичес- кая астроцитома	III	Правая лобная	1	2
22	45	М	Анапластичес- кая астроцитома	III	Правая теменн- ая	1	2
23	34	Ж	Диффузная астроцитома	II	Левая лобная	1	2
24	29	М	Олигодендрог- лиома	II	Правая лобная	0	2

25	35	Ж	Пилоидная астроцитома	I	Правая лобная	1	2
26	53	М	Диффузная астроцитома	II	Левая теменная	0	2
27	37	М	Олигоастроцитомы	II	Правая лобная	0	2

Обозначения: степень свечения – 0 – отсутствует, 1- слабое, 2 – умеренное, 3 - яркое

Приложение Е (Стр. 131)

Таблица 30. Особенности резекции глиом при наличии остаточного свечения в ложе и положительных ответов при субкортикальной ЭС.

№	Локализация	Гистология	Свечение к концу резекции	Сила тока при получении (+) М ответа, мА	Тактика хирурга
1	Лобная доля слева	Grade IV	Яркое диффузное	10	Остановка резекции при первом получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли в не этой зоны
2	Теменная доля справа	Grade III	Умеренное фокальное	7	Доудаление в нефлуоресцирующей зоне, остановка резекции в флуоресцирующей
3	Височная доля справа	Grade III	Слабое фокальное	7	Доудаление в флуоресцирующей зоне, остановка резекции в нефлуоресцирующей
4	Теменная доля слева	Grade IV	Яркое диффузное	12	Остановка резекции при первом получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли вне этой зоны
5	Лобная и височная доли слева	Grade IV	Яркое диффузное	11	Остановка резекции при первом получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли вне этой зоны
6	Теменная	Grade III	Яркое	10	Остановка резекции при первом

	доля справа		диффузное		получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли вне этой зоны
7	Лобная доля справа	Grade IV	Слабое фокальное	8	Доудаление в флуоресцирующей зоне, остановка резекции в нефлуоресцирующей
8	Теменная и затылочная доли справа	Grade IV	Умеренное диффузное	10	Остановка резекции при первом получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли вне этой зоны
9	Лобная доля слева	Grade IV	Яркое фокальное	7	Доудаление в флуоресцирующей зоне, остановка резекции в нефлуоресцирующей
10	Теменная доля справа	Grade III	Слабое фокальное	11	Доудаление в нефлуоресцирующей зоне, остановка резекции в флуоресцирующей
11	Лобная доля слева	Grade IV	Умеренное фокальное	12	Доудаление в нефлуоресцирующей зоне, остановка резекции в флуоресцирующей
12	Теменная и лобная доли справа	Grade II	Слабое фокальное	5	Доудаление в флуоресцирующей зоне, остановка резекции в нефлуоресцирующей
13	Височная доля слева	Grade IV	Умеренное диффузное	8	Остановка резекции при первом получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли вне этой зоны
14	Лобная доля слева	Grade IV	Яркое фокальное	11	Доудаление в нефлуоресцирующей зоне, остановка резекции в флуоресцирующей
15	Теменная доля слева	Grade III	Умеренное диффузное	10	Остановка резекции при первом получении (+) М ответа в зоне стимуляции, удаление светящейся опухоли вне этой зоны
16	Височная доля справа	Grade II	Слабое фокальное	8	Доудаление в нефлуоресцирующей зоне, остановка резекции в

					флуоресцирующей
17	Лобная доля справа	Grade III	Слабое фокальное	12	Доудаление в нефлуоресцирующей зоне, остановка резекции в флуоресцирующей

Приложение Ж. (Стр. 137). Данные о пробуждение краниотомии и 5-АЛК флуоресценции при верификации корковых зон Брока и Вернике.

N	Пол, возраст	Grade	Зона коры	Свечение опухоли	Локализация
1	Ж., 29	2	Брока	нет	Левая лобная
2	М., 50	2	Брока	нет	Левая лобная
3	Ж., 30	3	Брока	нет	Левая височная
4	М., 60	4	Брока	яркое	Левая лобная
5	М., 56	4	Брока	яркое	Левая лобная
6	Ж., 52	4	Вернике	нет	Левая височная
7	М., 25	2	Брока	нет	Левая лобная
8	М., 37	3	Брока	нет	Левая лобная
9	Ж., 50	2	Вернике	нет	Левая височная
10	Ж., 48	3	Брока	нет	Левая лобная
11	Ж., 56	2	Брока	нет	Левая лобная
12	Ж., 60	2	Брока	нет	Левая лобная
13	Ж., 64	4	Брока	яркое	Левая лобная
14	Ж., 36	3	Брока	нет	Левая лобная
15	Ж., 66	2	Брока	бледное	Левая лобная
16	М., 34	2	Брока	нет	Левая лобная
17	Ж., 58	4	Вернике	яркое	Левая височная
18	Ж., 28	2	Брока	бледное	Левая лобная
19	Ж., 61	4	Брока	яркое	Левая лобная
20	М., 33	4	Брока	нет	Левая лобная
21	М., 53	4	Вернике	яркое	Левая височная
22	Ж., 48	3	Брока	бледное	Левая лобная

23	М., 52	3	Брока	нет	Левая височная
24	Ж., 30	4	Брока	яркое	Лобно-височная слева
25	Ж., 58	4	Брока	яркое	Левая височная
26	Ж., 46	4	Брока	яркое	Лобно-височная слева
27	Ж., 54	4	Брока	яркое	Левая лобная
28	Ж., 40	2	Вернике	слабое	Левая лобная

ИТОГО: Ж – 19, М- 9, Брока – 23, Вернике – 5.

LGG/HGG=10/18

Флуоресценция: отсутствует/ слабая/яркая=14/4/10.

Приложение 3. (Стр. 182).

Таблица 42 - Выявление остаточных фрагментов интракраниальных менингиом с помощью метаболической навигации

Остаточная часть	Флуоресценция	Число наблюдений	Тактика хирурга
Твердая мозговая оболочка (ТМО)	4 – микроскопия 6 - спектрометрия	10	В 8 случаях проведена дополнительная резекция пораженной ТМО (конвекситальные опухоли)
подлежащая арахноидальная оболочка	3 – микроскопия 2 - спектрометрия	5	В 3 случаях подлежащая арахноидея с флуоресценцией коагулирована
Адвентиция сосудов	4 - микроскопия	4	Пораженные сосуды оставлены ввиду опасности нарастания неврологического дефицита при их коагуляции

Поражение костных структур	7 – микроскопия 4 – спектрометрия	11	Удаление костного лоскута, стачивание краев костного окна бором в зоне свечения у 10 человек
Остаточные фрагменты опухоли	6 - микроскопия	6	Во всех 6 наблюдениях мелкие остаточные фрагменты менингиом были удалены
ИТОГО:	36/101 (35,6%), хирургическая тактика скорректирована в 27/101 наблюдений (26,7%).		

Приложение И (Стр. 217)

Таблица 50. Данные о дополнительных биопсиях из ложа удаленных метастазов.

№	Пол	Возраст	Локализация, ФЗЗ (+/-)	Гистология	Свечение основного узла	Свечение ложа	Число биоптатов в ложе	Биопсия из ложа
1	Ж	64	Лобная доля справа (-)	Метастаз рака печени	нет	розовое	1	мозг
2	Ж	60	Лобная доля справа (+)	Метастаз меланомы	розовое	розовое	3	1 и 2 опухоль 3 - глиоз
3	М	60	Лобная доля справа (-)	аденокарцинома	яркое	розовое	4	1 – мозг, 2 сосуд, 3 и 4 опухоль
4	Ж	38	Левая теменная (+)	Метастаз меланомы	яркое	розовое	1	мозг
5	М	62	Лобная доля справа (+)	Метастаз рака легкого	яркое	розовое	1	Опухоль + мозг
6	М	56	Правая лобная и височная (-)	Метастаз рака слюнной железы	яркое	розовое	4	1- Мозг+опухоль 2- сосуд

								3- глиоз 4- опухоль
7	Ж	54	Височная доля слева (+)	Метастаз рака молочной железы	розовое	розовое	3	1 – опухоль 2 – мозг 3 - мозг
8	М	45	Лобная доля слева (+)	Метастаз рака легкого	яркое	розовое	2	1 – опухоль 1 - мозг
9	М	36	Затылочная доля слева (-)	Метастаз рака легкого	яркое	розовое	3	1 – опухоль 2 – мозг 3 - мозг
10	М	40	Лобная доля справа (+)	Метастаз рака легкого	яркое	розовое	2	1 – опухоль, 2 - опухоль
11	Ж	41	Левая теменная (+)	Метастаз рака молочной железы	розовое	розовое	2	1 – опухоль 2 - опухоль
12	М	46	Правая лобная (-)	Метастаз рака легкого	яркое	розовое	2	1 – опухоль 2 - мозг
13	Ж	50	Левая затылочная (-)	Метастаз меланомы	слабое	слабое	2	2 - опухоль
14	М	51	Правая теменно-височная (+)	Метастаз рака кишечника	слабое	слабое	2	1 – опухоль 2 - мозг
15	Ж	26	Лобные доли с 2 сторон (-)	Меланома	нет	яркое	2	1 –опухоль 2 - опухоль
16	Ж	71	Височная доля слева (+)	Метастаз рака молочной железы	слабое	слабое	2	1 – мозг 2 - мозг
17	Ж	36	Лобная доля справа (-)	Метастаз рака почки	умеренное	умеренное	2	1 – мозг, 2 - мозг
18	М	42	Теменно-височная слева (-)	Метастаз рака легкого	умеренное	умеренное	2	1 – опухоль 2 - мозг
19	Ж	67	Лобная доля слева (+)	Метастаз рака почки	нет	слабое	2	1 – мозг 2 - мозг
20	Ж	31	Височная доля справа (-)	Метастаз рака молочной железы	нет	слабое	2	1 – опухоль 2 - опухоль

21	Ж	46	Лобная справа (-)	Метастаз меланомы	нет	слабое	2	1 – мозг 2 - мозг
22	М	63	Височная доля слева (+)	Метастаз рака легкого	яркое	яркое	2	1 – опухоль 2 - опухоль
ИТОГО: 22 (ФЗЗ + 10)							48 (25 опухолевые и 23 без опухоли)	