

ЛЕЧЕБНЫЙ ПАТОМОРФОЗ В ТКАНЯХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ГЛИОМЫ ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ХЛОРИНОМ е6 (СООБЩЕНИЕ О ДВУХ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЯХ)

А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин, Ю.М. Забродская

Российский нейрохирургический институт имени профессора А.Л. Поленова – филиал
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Фотодинамическая терапия (ФДТ) в последние годы все более внедряется в хирургическую практику лечения злокачественных новообразований. В данной публикации авторами показано появление лечебного патоморфоза *in vivo* в клетках злокачественной глиомы человека после интраоперационной ФДТ. В образцах тканей, полученных через 10–14 дней после ФДТ, выявлены ядерные и цитоплазматические признаки, указывающие на апоптоз, некроз и аутофагию. Обнаружено снижение пролиферативной активности глиальных опухолевых клеток, увеличение числа случаев их гибели. По данным иммуногистохимии отмечено уменьшение экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67 и снижение содержания белка транскрипционного фактора р53.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, злокачественные глиомы, хлорин е6, лечебный патоморфоз, головной мозг.

Для цитирования: Рында А.Ю., Ростовцев Д.М., Олюшин В.Е., Забродская Ю.М. Лечебный патоморфоз в тканях злокачественной глиомы после фотодинамической терапии с хлорином е6 (сообщение о двух клинических случаях) // Biomedical Photonics. – 2020. – Т. 9, № 2 – С. 45–54. doi: 10.24931/2413–9432–2020–9–2–45–54.

Контакты: Рында А.Ю., e-mail: artemii.rynda@mail.ru.

THERAPEUTIC PATHOMORPHOSIS IN MALIGNANT GLIOMA TISSUES AFTER PHOTODYNAMIC THERAPY WITH CHLORIN e6 (REPORTS OF TWO CLINICAL CASES)

Rynda A.Yu., Rostovtsev D.M., Olyushin V.E., Zabrodskaya Yu.M.

Russian Neurosurgical Institute named after Professor A.L. Polenov – a branch of «The National Medical Research Center named after V.A. Almazov», Saint-Petersburg, Russia

Abstract

In recent years, photodynamic therapy (PDT) has been increasingly introduced into the surgical practice of treating malignant neoplasms. In this publication, the authors show the appearance of therapeutic pathomorphosis *in vivo* in human malignant glioma cells after intraoperative photodynamic therapy. Tissue samples obtained 10–14 days after PDT revealed nuclear and cytoplasmic signs indicating apoptosis, necrosis, and autophagy. A decrease in the proliferative activity of glial tumor cells and their higher death count were detected. Immunohistochemical analysis shows decreases expression of Ki-67 cell proliferation marker and decreased amount of transcription factor protein p53.

Keywords: photodynamic therapy, malignant gliomas, chlorin e6, therapeutic pathomorphosis, brain.

For citations: Rynda A.Yu., Rostovtsev D.M., Olyushin V.E., Zabrodskaya Yu.M. Therapeutic pathomorphosis in malignant glioma tissues after photodynamic therapy with chlorin e6 (reports of two clinical cases), *Biomedical Photonics*, 2020, vol. 9, no. 2, pp. 45–54 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2020–9–2–45–54.

Contacts: Rynda A.Yu., e-mail: artemii.rynda@mail.ru.

Введение

В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) активно применяется для лечения опухолей различных локализаций. Впервые ее использование в терапии опухолей головного мозга предложил I. Diamond в 1972 г. [1], и уже в 1980 г. С. Perria описал результаты лечения злокачественных глиом (ЗГ) с применением ФДТ [2]. В дальнейшем учеными было выполнено значительное количество небольших клинических исследований с целью оценки безопасности и эффективности этой методики в терапии глиом [3, 4].

Механизм ФДТ нацелен на деструкцию клеток и сосудов опухоли, накопивших введенный фотосенсибилизатор (ФС) и находящихся в ложе резецированной опухоли, с помощью лазерного излучения определенной длины волны. Поступая в кровь, ФС аккумулируется в метаболически активной опухолевой ткани.

Оказанное воздействие на опухолевую ткань индуцирует ряд внутриклеточных и тканевых механизмов, в результате которых клетка погибает посредством апоптоза, некроза или аутофагии. Реакция на фотодинамическое воздействие зависит от типа опухолевой клетки, её генетического или метаболического потенциала, а также от общего количества энергии доставляемого излучения, типов используемых ФС и их внутриклеточной локализации. Первоначальный участок повреждения, вызванного ФДТ, может определить какой путь гибели клеток активирован. Предполагается, что процесс аутофагии запускается, когда поврежденные вследствие ФДТ клетки пытаются удерживать поврежденные белки с последующим их удалением из клетки. Механизм апоптоза запускается в случае достаточно сильного повреждения в клетке, не подлежащего восстановлению. Использование ФДТ в максимальных дозах облучения приводит к некрозу, поскольку белки, участвующие в аутофагии и в апоптозе, могут быть быстро разрушены, а целостность клеток может быть нарушена. Кроме того, закрытие питающих опухоль сосудов может привести к локальному истощению питательных веществ и кислорода и вызвать вторичный некроз, связанный с ФДТ [5–7].

Ряд авторов высказывает мнение, что способ гибели клеток, наблюдаемый при ФДТ, зависит от места наибольшего накопления ФС внутри клетки. Проведение ФДТ при локализации ФС в митохондриях приведет к потере мембранной проницаемости и высвобождению проапоптотических медиаторов, в то время как повреждение эндоплазматического ретикула высвобождает клеточные отложения кальция. Повреждение лизосом, в которых скопился ФС, приводит к активации при лазерном излучении протеолитических ферментов. Лизосомы могут также сливаться с аутофагосомами, приводя к активации

гидролиза поврежденных органелл и рециркуляции их при аутофагии. При локализации ФС в более чем одной органелле в гибели клетки может участвовать несколько путей одновременно [7].

Через дополнительные механизмы врожденной иммунной системы запускается антибластомный иммунитет в областях, находящихся вне зоны проводимой ФДТ. В некоторых случаях ФДТ стимулирует иммунную систему через несколько механизмов, например, повреждая клетки через комбинацию цитостатических механизмов [7] и эндогенных внутриклеточных молекул, известных как Damage Associated Molecular Patterns (DAMPs) (повреждение, связанное с молекулярным паттерном) [8]. DAMPs, приводящие к повышению чувствительности иммунной системы к опухолевым клеткам, включают в себя калретикулин, фосфатидилсерин, аденозинотрифосфат, пероксиредоксин 1, HMGB1, BCL-2 и аннексин A1 [5, 9].

Среди многих цитокинов, которые могут быть активированы ФДТ, выделяют интерлейкин-1 (IL-1) и интерлейкин 6 (IL-6), служащие хемоаттрактантами для различных форм иммунных клеток, включая нейтрофилы, фагоциты и лимфоциты [10]. Проникновение нейтрофилов в клетки, накопившие ФС и подвергнутые облучению, происходит в течение нескольких минут после проведения сеанса ФДТ, что увеличивает уровень IL-1 и IL-6 в дополнение к появлению Е-селектина в клетках зоны перифокального опухолевого воспаления. Некоторые авторы описывают значимость нейтрофилов в посредничестве индуцированной ФДТ цитотоксичности. Кроме того, активация гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) приводит к увеличению количества нейтрофилов в тканях, потенцируя эффективность ФДТ. Sessic I. с соавт. показали важность наличия анафилактина C3a совместно с вызванным ФДТ нейтрофильным лейкоцитозом [11]. Происходит ингибирование веществ клеточного микроокружения: вазоэндотелиального ростового фактора, циклооксигеназы 2 типа, металлопротеиназ 2 типа и 9 типа, ингибитора апоптоза survivin, белка теплового шока HSP-90 и др. Кроме того, вызванный ФДТ выпуск других семейных белков теплового шока, таких как HSP-47, 60, и 90, приводит к повышению чувствительности антигенпрезентирующего комплекса к опухолевым клеткам [8]. В ходе такого ингибирования останавливаются патологический ангиогенез и опухолевая клеточная пролиферация. HSP70 связывается с антигенпрезентирующими клетками (APCs) и облегчает представление антигена, приводя к созреванию дендритных клеток и активации CD8 и цитостатических Т-лимфоцитов [12].

Фиксированный на клетке ФС при воздействии лазерного излучения активирует также неиммунные механизмы антибластомной резистентности, такие

как канцеролитические клетки (фагоциты, естественные киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты), фактор некроза опухолей альфа, фактор аллогенного торможения и деструкции чужеродных клеток (факторы контактного торможения, подавляющие таксис и пролиферацию опухолевых клеток), альфа-липопротеины окружающей ткани.

Исходом данных реакций являются гипоксия, воспаление, оксидативный стресс, приводящий к апоптотическому, асептическому некрозу опухоли. Вторичное снижение синтеза макроэргических соединений при вторичной опухолевой тканевой гипоксии вызвано редукцией цитохрома С3, снижением отношения АТФ/АДФ и уменьшением содержания НАДН и НАД⁺, что вызывает резкое снижение дыхательной способности митохондрий [13].

Активация лизосомальных ферментов опухолевой клетки вызывает внутриклеточный катаболизм белков и липидов, в результате чего накапливаются недоокисленные продукты обмена, такие как бета-окисляемая кислота и ацетоуксусная кислота. Происходит уменьшение активности антиоксидантных систем глиальной опухолевой клетки в основном за счет уровня активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, что запускает активацию свободно-радикального окисления и приводит к деструкции цитоплазматических мембран опухолевой клетки, митохондрий, лизосом, а также мембран эндоплазматического ретикула и нарушению функционирования транспортных систем клетки.

Активирование внутриклеточных процессов запускает каспазный каскад активации комплемента с формированием апоптосомных внутриклеточных телец. Каспазы через ряд биохимических реакций активируют белок р53, подавляющий рост опухолевых клеток в фазе G1. Точкой приложения ФДТ служат также эндотелий кровеносных сосудов и система макрофагальных клеток, после облучения которых происходит выработка медиаторов воспаления и цитокинов (лимфокины, тромбоксаны, простагландины и др.), обеспечивающих сосудистый компонент деструкции стромы опухоли [14].

Оценить лечебный патоморфоз *in vivo* после проведенной ФДТ спустя 7–14 дней после операции у пациентов со злокачественными глиальными опухолями крайне затруднительно в связи с интракраниальным расположением новообразования. Для его оценки требуется повторное оперативное вмешательство с целью забора биопсийного материала, что возможно только по клиническим показаниям. На данный момент в литературных источниках практически отсутствует информация относительно этих данных. Имеющиеся научные публикации и сообщения в основном базируются на результатах исследования гистологического материала, полученного на мо-

делях глиальных опухолей у животных, или на анализе тканей глиальной опухоли *in vitro*, лишенной кровотока и микроокружения, с нарушенной биохимией и биофизикой ткани, спустя 6–72 ч после операции [6, 15–20]. Как следствие, получаемые данные отдалены от изменений, происходящих в реальных условиях.

Вышеописанные результаты исследований, проведенных на различных экспериментальных моделях глиальных новообразований, показывают, что изменения в клетках опухоли, обусловленные ФДТ, демонстрируют признаки их гибели по пути апоптоза, реже некроза и аутофагии [15–23]. Имеются данные о возможности активации ФС в опухолевых клетках, находящихся на отдалении от основного очага или залегающих в перифокальной зоне, так как проникновение излучаемого света в ткань мозга и опухоли ограничено их физико-химическими свойствами. Однако этого достаточно для значительного объемного воздействия на ткань при использовании различных диффузоров или рассеивателя для облучения всей полости [4, 24–27].

Материалы и методы

В Российском нейрохирургическом институте имени профессора А.Л. Поленова с 2004 по 2016 гг. было пролечено 97 пациентов с глиальной опухолью супратенториальной локализации.

В соответствии с классификацией ВОЗ Grade IV диагностирована у 49 (50,5%) пациентов, Grade III – у 30 (31%), Grade II – у 18 (18,5%). Среди пациентов с опухолью Grade IV у 48 морфологически диагностирована глиобластома, в одном случае – глиосаркома. В группе больных с опухолью Grade III преобладали анапластические астроцитомы, реже встречались олигоастроцитомы, олигодендроглиомы. Среди астроцитарных опухолей Grade II преобладали фибриллярно-проtoplasmатические астроцитомы.

К пациентам применяли комплексный метод лечения, включающий хирургическое удаление опухоли, проведение интраоперационной флуоресцентной диагностики и ФДТ с препаратом группы хлоринов е6 второго поколения фотодитазин (ООО «БЕТА-ГРАНД», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС 001246 от 18.05.2012) [24, 25].

Степень тотальности удаления опухоли оценивали по данным МРТ (КТ) головного мозга в первые 72 ч после хирургического вмешательства. У подавляющего большинства пациентов удалось достичь тотального (52 больных, 53,63%) или субтотального (33 больных, 34,0%) удаления опухоли. У 12 (12,37%) пациентов опухоль удалена частично.

Выбор и назначение дальнейшей адъювантной лучевой или химиотерапии зависели от гистологической структуры опухоли.

Проведен анализ эффективности применения ФДТ, основанный на результатах морфологического

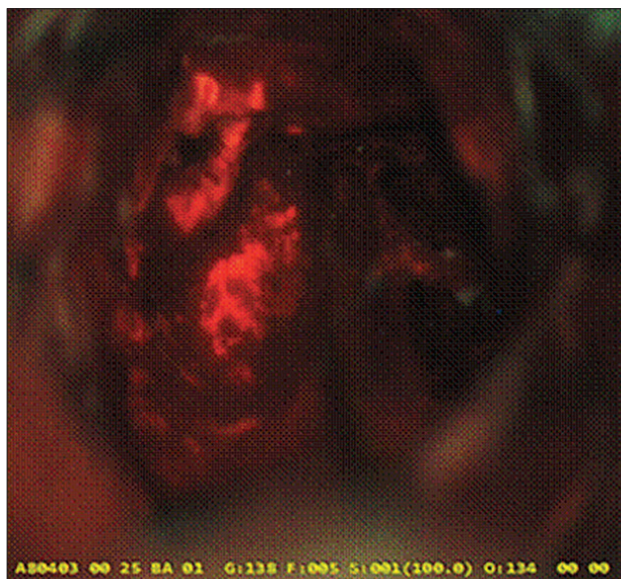


Рис. 1. Флуоресценция фотодитазина в глиобластоме
Fig. 1. Fluorescence of Fotoditazin in glioblastoma

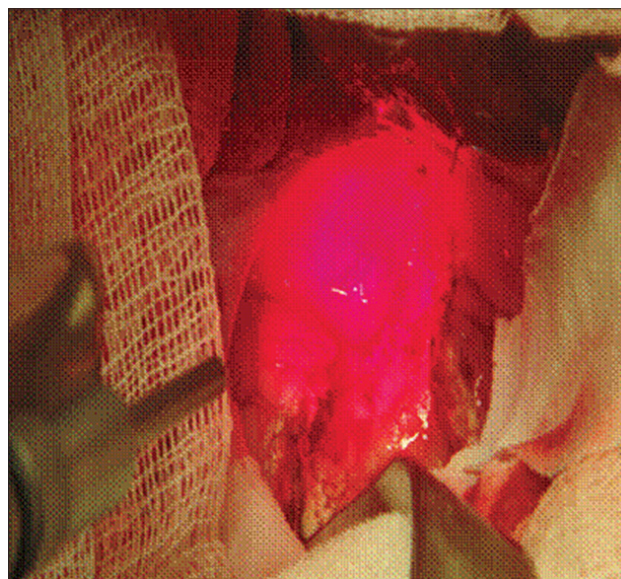


Рис. 2. Внешний вид операционного поля при проведении сеанса интраоперационной фотодинамической терапии
Fig. 2. A session of photodynamic therapy

исследования биоптатов, полученных интраоперационно у 2 (4,1%) пациентов с глиальными опухолями головного мозга Grade IV супратенториальной локализации.

Методика проведения интраоперационной фотодинамической терапии

Во время нахождения пациента на операционном столе, после вводного наркоза и за 1,5–2 ч до предполагаемого удаления опухоли, внутривенно вводили фотодитазин с действующим веществом хлорин е6, разведенный в 200 мл физиологического раствора из расчета 1 мг препарата на 1 кг массы тела пациента. Флакон с разведенным препаратом заключали в светонепроницаемый материал. Фотодитазин избирательно накапливался в ткани глиомы, при этом его концентрация в нормальной мозговой ткани оставалась минимальной, что позволяло по характерной для хлоринов красной флуоресценции определить опухолевые участки (рис. 1).

Для проведения флуоресцентной диагностики в синем цвете к операционному микроскопу (LEICA OHS-1, Leica Microsystems, Германия) подключали флуоресцентную приставку (ЛОМО, Санкт-Петербург, Россия). Флуоресцентная картина позволяла с высоким цветовым контрастом определить ткань опухоли, накопившую фотодитазин, относительно интактной ткани. При этом неизмененное мозговое вещество также было видно. Флуоресцирующую красным цветом ткань поэтапно удаляли с учетом функциональных и анатомо-физиологических особенностей локализации опухоли.

После удаления новообразования достигали тщательного гемостаза по перифокальной зоне. Далее в ложе удаленной опухоли погружали дистальный конец волоконного инструмента, подключенного к лазерному источнику излучения (Латус 2,5, Аткус, Россия) с длиной волны 662 нм и максимальной мощностью 2,5 Вт, и проводили лазерное облучение (рис. 2). Длительность облучения не превышала 15–20 мин. Для предотвращения возможности температурного повреждения тканей во время облучения проводили непрерывное орошение ложа физиологическим раствором. Световая доза составила в среднем 180 Дж/см². В последующие 24 ч пациент носил темные очки во избежание попадания прямого солнечного света на сетчатку глаза для предупреждения её светового повреждения из-за присутствия на ней остатков фотодитазина.

У всех пациентов диагноз был подтвержден гистологическим исследованием операционного материала в соответствии с классификацией опухолей ЦНС ВОЗ. Материала фиксировали в 10% формалине, обезживали стандартным способом и заливали в парафин. Изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм (микротом Leica SM 2000R, Leica Microsystems, Германия), окрашивали гематоксилином и эозином, при необходимости проводили другие окраски: пикрофуксином по методу Ван Гизона, импрегнацию серебром. Для визуализации и выполнения микрофотографий использовали лабораторный микроскоп Leica 4000B (Leica Microsystems, Германия) и лабораторный микроскоп Leica DM 2500 (Leica Microsystems, Германия), оснащенный цифровой камерой и адаптированной программой

Adobe Photoshop CS 3. Иммуногистохимически определяли экспрессию маркеров p53, Ki-67 (MIB-1).

Результаты

Двум пациентам по поводу развившихся осложнений выполнены повторные операции.

В первом наблюдении пациент К., мужчина 58 лет, с глиобластомой правой лобной доли реоперирован через 10 дней после операции с ФДТ в связи с формированием острой эпидуральной гематомы в зоне оперативного вмешательства вследствие травмы, полученной при падении из-за выраженного головокружения. В послеоперационном периоде неврологический статус пациента не изменился.

Во время первой операции для индукции фотодинамического воздействия внутривенно вводили фотодитазин в дозе 1 мг/кг массы тела за 1,5 ч до удаления опухоли. Сеанс ФДТ проводили с диффузором длиной 1 см, в непрерывном режиме, диаметром оптического волокна 200 мкм, выходной оптической мощностью 0,5 Вт, плотностью энергии 180 Дж/см². Длительность облучения составила 15 мин.

В другом наблюдении пациент М., мужчина 45 лет, с глиобластомой левой лобной доли реоперирован по поводу остеомиелита костного лоскута через 2 нед после хирургического лечения с ФДТ. В послеоперационном периоде неврологический статус пациента не ухудшился.

Для индукции фотодинамического воздействия во время первой операции внутривенно также вводили фотодитазин в дозе 1 мг/кг массы тела за 1,5 ч до удаления опухоли. Длительность облучения составила 15 мин. Облучение проводили конусовидным диффузором длиной 1 см с шариком на конце, в непрерывном режиме, диаметром оптического волокна 200 мкм, выходной оптической мощностью 0,5 Вт. Плотность энергии составила 180 Дж/см².

В обоих случаях у пациентов были взяты биоптаты из ложа удаленной опухоли в месте проведения ФДТ. Выполнена патоморфологическая и иммуногистохимическая оценка лечебного патоморфоза, вызванного ФДТ. В образцах тканей, полученных после ФДТ, выявлены ядерные и цитоплазматические признаки, указывающие на апоптоз, некроз и аутофагию. Отмечались маргинальность хроматина вдоль интактной ядерной мембраны, конденсация хроматина, набухшие митохондрии с фрагментацией митохондриальных гребней, увеличение числа цитоплазматических вакуолей, узурации мембран (рис. 3, 4). В биоптатах глиальной опухоли наблюдали гомогенизацию, утрату клетками границ, формирование клеток-призраков с пикнотическими ядрами, перинуклеарную вакуолизацию и усыхание цитоплазмы, выраженную вакуолярную дегенерацию. Отдельные клетки в опухолевых конкрециях, преимущественно расположен-

ных на границах, демонстрировали морфологические изменения, характерные для апоптоза: конденсацию хроматина, кариопикноз, эозинофильную цитоплазму и увеличенное ядерно-цитоплазматическое отношение.

В первом случае на фоне проводимой ФДТ наблюдали выраженные поля глиоза и некроза, внутриклеточные признаки конденсации хроматина, фрагментации клеток, апоптотические тельца, наличие фагосом. Отмечали признаки типичных дистрофических и альтеративных изменений на фоне выраженных сосудистых расстройств: стазы, резкое полнокровие, сладж-феномен, микротромбозы, плазмо- и геморрагии, и воспалительную инфильтрацию.

Во втором случае отмечено выраженное увеличение числа цитоплазматических вакуолей, узурация мембран, фрагментация митохондриальных гребней, кариопикноз и признаки аутофагии, наличие клеток-«монстров». Кровеносные сосуды были щелевидными с частично сформированными тонкими стенками и деформированными просветами.

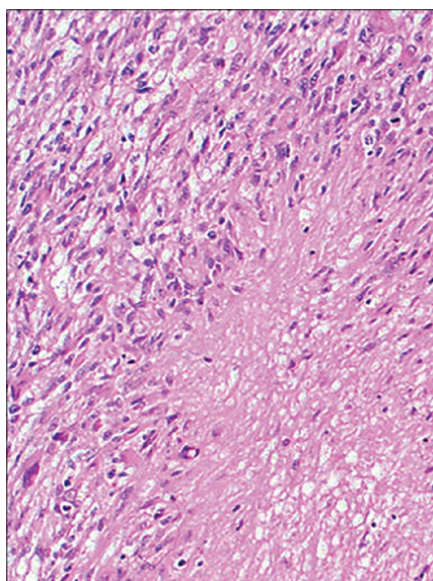
Очаги некроза были окружены соединительной тканью (заместительный глиоз). Вокруг групп опухолевых клеток наблюдали образование лимфоцитарных инфильтратов, а также лимфоцитарных периваскулярных муфт, появление гигантских многоядерных и ксантомных клеток. Следует особо отметить градиентный характер альтеративных изменений в тканях опухоли, выраженность которых постепенно убывала от центра к ее периферии.

Наличие лечебного патоморфоза после ФДТ прослеживалось и при иммуногистохимическом исследовании препаратов, выявившем уменьшение экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67 с 31 до 7% в первом случае и с 29 до 6% во втором случае. Отмечено снижение содержания белка транскрипционного фактора p53 после ФДТ с «+++» до «+» у обоих пациентов (рис. 5, 6).

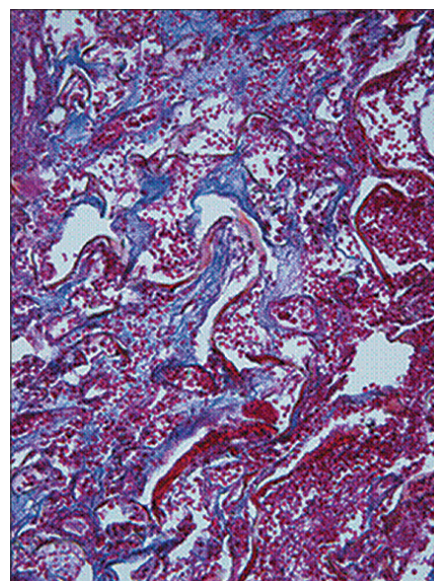
Катамнез у первого пациента после комплексного лечения с применением интраоперационной ФДТ и последующих лучевой терапии (СОД 95 Гр) и химиотерапии темозоломидом (6 курсов) составил 19 мес. У второго пациента после комплексного лечения с применением интраоперационной ФДТ и последующих лучевой терапии (СОД = 60 Гр) и химиотерапии темозоломидом (4 курса) катамнез составил 17,5 мес.

Обсуждение

Высокие риски продолженного роста опухоли и низкая медиана выживаемости при ЗГ являются основными причинами, неблагоприятно влияющими на результат лечения. Несмотря на высокую вероятность рецидива опухоли, многие литературные данные показывают, что величина безрецидивного периода и медиана продолжительности жизни пациентов с ЗГ зависит от радикальности проведенного оператив-



а



б

Рис. 3. Микрофотография препарата глиобластомы пациента К.:

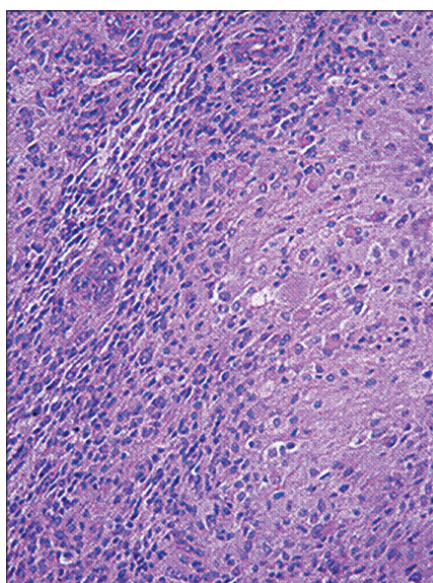
а – до проведения фотодинамической терапии;

б – лечебный патоморфоз через 10 дней после проведения фотодинамической терапии. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. x200.

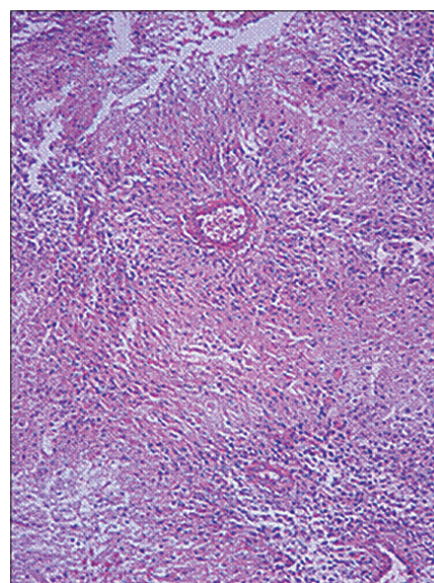
Fig. 3. Micrograph of glioblastoma of patient K. (magnification x200, hematoxylin-eosin staining):

а – before photodynamic therapy;

б – therapeutic pathomorphosis 10 days after photodynamic therapy



а



б

Рис. 4. Микрофотография препарата глиобластомы пациента М.:

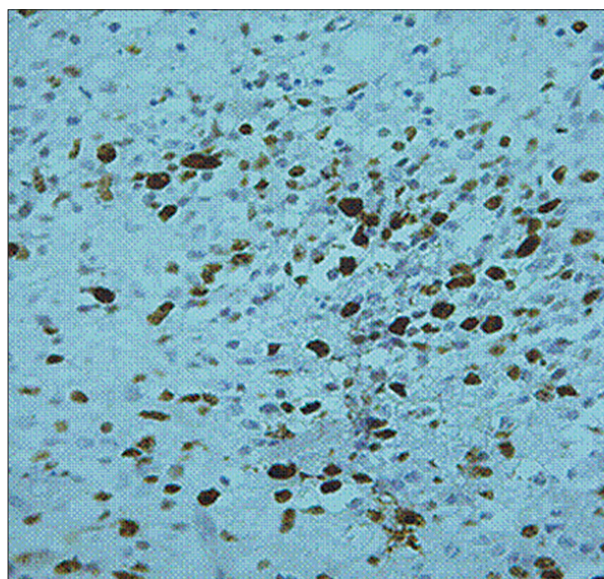
а – до проведения фотодинамической терапии;

б – лечебный патоморфоз через 14 дней после фотодинамической терапии. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. x200.

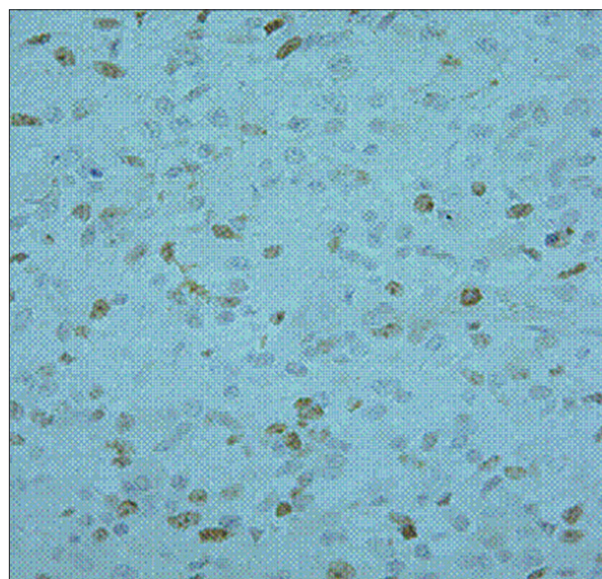
Fig. 4. Micrograph of glioblastoma of patient M. (Magnification x200, stained with hematoxylin-eosin):

а – before photodynamic therapy;

б – therapeutic pathomorphosis 14 days after photodynamic therapy



а



б

Рис. 5. Иммуногистохимия. Экспрессия Ki-67 в препарате глиобластомы пациента М.:

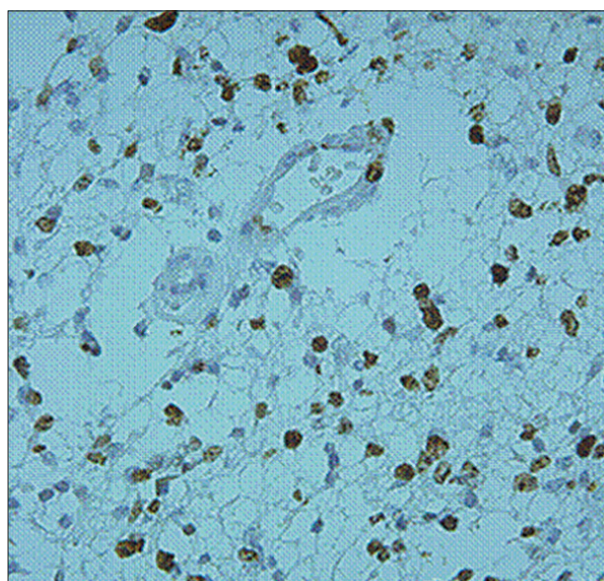
а – до проведения фотодинамической терапии;

б – лечебный патоморфоз через 14 дней после фотодинамической терапии. Ув. x400

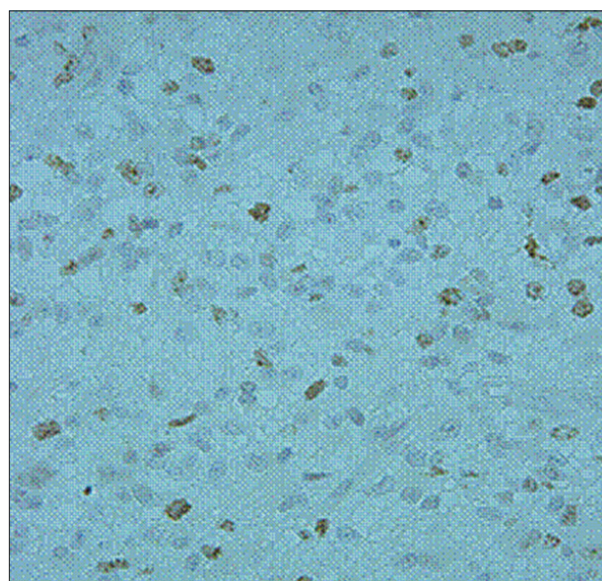
Fig. 5. Immunohistochemistry. Expression of Ki-67 in glioblastoma of patient M. (magnification x400):

а – before photodynamic therapy;

б – therapeutic pathomorphosis 14 days after photodynamic therapy



а



б

Рис. 6. Иммуногистохимия. Экспрессия p53 в препарате глиобластомы пациента М.:

а – до проведения фотодинамической терапии;

б – лечебный патоморфоз через 14 дней после фотодинамической терапии. Ув. x400.

Fig. 6. Immunohistochemistry. Expression of p53 in glioblastoma of patient M. (magnification x400):

а – before photodynamic therapy;

б – therapeutic pathomorphosis 14 days after photodynamic therapy

ного вмешательства. Эта закономерность сохраняется и при повторных оперативных вмешательствах. Но надо учитывать, что глиальным опухолям присущ инвазивный характер роста с распространением опухолевых клеток по периваскулярным пространствам на значительном отдалении от основного очага опухоли. Характер роста глиом и ограниченность возможности резекции в функционально значимых зонах головного мозга не позволяют достичь тотального удаления опухоли [3, 4, 24–26]. Поэтому актуальной проблемой остается поиск новейших методов лечения, при которых достигается максимально возможное удаление опухолевых клеток в перифокальной зоне опухоли и на отдалении от основного очага. Одной из таких методик является проведение интраоперационной ФДТ. Безопасность и эффективность данной методики при лечении онкологических заболеваний разных локализаций были показаны рядом авторов. В последние годы все чаще стали появляться публикации по результатам применения ФДТ у пациентов с ЗГ. Но работ, посвященных эффективности ФДТ у пациентов с ЗГ, основанных на результатах морфологических исследований, встречается крайне редко. В основном это экспериментальные модели клеточных линий и материалы биопсии у животных с имплантированными человеческими глиомами, подвергнутыми ФДТ.

Ответ тканей опухоли на интраоперационную ФДТ представляет собой комплекс индуцированных альтеративно-деструктивных изменений в глиоме. Его оценка имеет особое значение для определения эффективности ФДТ, занимающей принципиально важное место при лечении ЗГ.

В нашем исследовании оценка эффективности проводимой ФДТ была основана не только на данных катанеза, но и на изучении лечебного патоморфоза при гистологическом исследовании препаратов опухоли до и после ФДТ.

Было обнаружено, что тканевыми и клеточными мишенями ФС фотодитазина являются стенка сосудов, плазматическая мембрана неопластической ткани и интрацеллюлярные структуры и механизмы, отвечающие за пролиферацию и процессы биосинтеза. Внутриклеточное расположение ФС в различных органоидах (митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, цитоплазматическая мембрана и т.д.)

играло важную роль в механизме гибели клеток. После проведенной ФДТ снижалась пролиферативная активность опухолевых клеток. По данным иммуногистохимического исследования прослеживалось снижение экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67 и содержания белка транскрипционного фактора p53. Таким образом, снижение экспрессии Ki-67 и p53 после ФДТ может рассматриваться как благоприятный прогностический предиктор эффективности терапии.

Полученные в результате нашего исследования данные указывают на морфологические изменения в глиальных опухолевых клетках после проводимой ФДТ. Однако малочисленность нашего клинического исследования не позволяет сделать однозначно достоверные выводы и требует дальнейшего изучения данного вопроса.

Заключение

Результаты нашей работы могут свидетельствовать об эффективности ФДТ в структуре комплексного лечения пациентов с ЗГ, о чем говорят и результаты применения методики многими авторами [3, 4, 7, 24–29].

Выявленные морфологические изменения в тканях глиобластомы после ФДТ следует расценивать как проявление лечебного патоморфоза.

Безусловно, в ближайшем будущем ФДТ войдет в стандарт лечения пациентов с ЗГ наравне с такими методами, как лучевая и химиотерапия. Кроме этого, ФДТ не имеет системного побочного воздействия на здоровые ткани, какие возникают после химиотерапии и лучевой терапии, и относится к методикам суперселективного воздействия на опухолевые клетки.

ФДТ является перспективным и безопасным методом, дающим возможность интраоперационно воздействовать на диссеминированные опухолевые клетки, залегающие в перифокальной зоне, вызывая в них структурные изменения (лечебный патоморфоз), что обуславливает лучшие отдаленные результаты лечения больных ЗГ. Данную методику нужно применять в составе комплексного лечения в хирургии глиальных опухолей головного мозга супратенториальной локализации разной степени злокачественности. Но необходима дальнейшая аккумуляция клинических данных для исследования эффективности и полезности применения ФДТ у больных ЗГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Perria C., Capuzzo T., Cavagnaro G. et al. First attempts at the photodynamic treatment of human gliomas // *J neurosurg sci.* – 1980. – Vol. 24. – P. 119–129.
2. Diamond I., Granelli S.G., McDonagh A.F. et al. Photodynamic therapy of malignant tumours // *Lancet.* – 1972. – Vol. 2. – P. 1175–1177.

REFERENCES

1. Perria C., Capuzzo T., Cavagnaro G., Datti R., Francaviglia N., Rivano C., Tercero V.E. First attempts at the photodynamic treatment of human gliomas, *J neurosurg sci*, 1980, vol. 24, pp. 119–129.
2. Diamond I., Granelli S.G., McDonagh A.F., Nielsen S., Wilson C.B., Jaenicke R. Photodynamic therapy of malignant tumours, *Lancet*, 1972, vol. 2, pp. 1175–1177.

3. Куржупов М.И., Филоненко Е.В., Лошаков В.А., Зайцев А.М. Фотодинамическая терапия в нейроонкологии // Рос. онкол. журн. – 2010. – № 4. – С. 45–48.
4. Церковский Д.А., Маслаков Е.А., Багринцев Д.А. и соавт. Роль фотодинамической терапии в лечении первичных, рецидивных и метастатических злокачественных опухолей головного мозга // Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 37–49.
5. Korbelik M., Sun J., Cecic I. Photodynamic therapy-induced cell surface expression and release of heat shock proteins: relevance for tumor response // Cancer res. – 2005. – Vol. 65. – P. 1018–1026.
6. Yakubovskaya R.I., Morozova N.B., Pankratov A.A., et al. Experimental photodynamic therapy: 15 years of development // Russian Journal of General Chemistry. – 2015. – Vol. 85(1). – P. 217–239.
7. Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B. et al. Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer // Cancer. – 2011. – Vol. 3. – P. 2516–2539.
8. Tesniere A., Panaretakis T., Kepp O. et al. Molecular characteristics of immunogenic cancer cell death // Cell seath siffer. – 2008. – Vol. 15. – P. 3–12.
9. Garg A.D., Agostinis P. ER stress, autophagy and immunogenic cell death in photodynamic therapy-induced anti-cancer immune responses // Photochem photobiol sci. – 2014. – Vol. 13. – P. 474–487.
10. Kaplanski G., Marin V., Montero-Julian F. et al. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation // Trends Immunol. – 2003. – Vol. 24. – P. 25–29.
11. Cecic I., Stott B., Korbelik M. Acute phase response-associated systemic neutrophil mobilization in mice bearing tumors treated by photodynamic therapy // Int immunopharmacol. – 2006. – Vol. 6. – P. 1259–1266.
12. Todryk S., Melcher A.A., Hardwick N. et al. Heat shock protein 70 induced during tumor cell killing induces Th1 cytokines and targets immature dendritic cell precursors to enhance antigen uptake // J immunol. – 1999. – Vol. 163. – P. 1398–1408.
13. Huang H.C., Mallidi S., Liu J. et al. Photodynamic Therapy Synergizes with Irinotecan to Overcome Compensatory Mechanisms and Improve Treatment Outcomes in Pancreatic Cancer // Cancer res. – 2016. – Vol. 76. – P. 1066–1077.
14. Chen B., Pogue B.W., Hoopes P.J. Vascular and cellular targeting for photodynamic therapy // Crit rev. Eukaryot gene expr. – 2006. – Vol. 16. – P. 279–306.
15. Hamsch P., Istomin Y.P., Tzerkovsky D.A., et al. Efficient cell death induction in human glioblastoma cells by photodynamic treatment with Tetrahydroporphyrin-Tetratosylat (THPTS) and ionizing irradiation // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, No. 42. – P. 72411–72423.
16. Tirapelli L.F., Morgueti M., da Cunha Tirapelli D.P., et al. Apoptosis in glioma cells treated with PDT // Photomed Laser Surg. – 2011. – Vol. 29, No. 5. – P. 305–309.
17. Miki Y., Akimoto J., Yokoyama S., et al. Photodynamic Therapy in Combination with Talaporfin Sodium Induces Mitochondrial Apoptotic Cell Death Accompanied with Necrosis in Glioma Cells // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2013. – Vol. 36, Iss. 2. – P. 215–221.
18. Yuan S.X., Li J.L., Xu X.K. Underlying mechanism of the photodynamic activity of hematoporphyrin-induced apoptosis in U87 glioma cells // International Journal of Molecular Medicine. – 2018. – Vol. 41, Iss. 4. – P. 2288–2296.
19. Fisher C.J., Niu C., Foltz W., et al. ALA-PpIX mediated photodynamic therapy of malignant gliomas augmented by hypothermia // PLoS ONE. – 2017. – Vol. 12, No. 7. – e0181654.
20. Boeuf-Murailleab G., Rigauxa G., Callewaert M., et al. Evaluation of mTHPC-loaded PLGA nanoparticles for in vitro photodynamic therapy on C6 glioma cell line // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2019. – Vol. 25. – P. 448–455.
21. Rynda A., Rostovtsev D., Olyushin V. et al. Fluorescence-Guided Resection of glial brain tumors with Fotoditazin // Journal of Surgery. – 2018. – Vol. 6, Iss. 5. – P. 116–122.
3. Kurzchupov M.I., Filonenko E.V., Loshakov V.A., Zaytsev A.M. Photodynamic therapy in neurooncology, *Ros. onkol. zhurn.*, 2010, no. 4, pp. 45–48. (in Russ.)
4. Tzerkovsky D.A., Maslakov E.A., Bagrintsev D.A., Semak I.A., Protopovich Y.L., Chizh A.G., Tatur A.A., Fomenkov I.S., Stupak D.S. The role of photodynamic therapy in the treatment of primary, recurrent and metastatic malignant brain tumors, *Biomedical Photonics*, 2018, vol. 7, no. 2, pp. 37–49. (in Russ.)
5. Korbelik M., Sun J., Cecic I. Photodynamic therapy-induced cell surface expression and release of heat shock proteins: relevance for tumor response, *Cancer res*, 2005, vol. 65, pp. 1018–1026.
6. Yakubovskaya R.I., Morozova N.B., Pankratov A.A., et al. Experimental photodynamic therapy: 15 years of development, *Russian Journal of General Chemistry*, 2015, vol. 85(1), pp. 217–239.
7. Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B., Hamblin M.R. Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer, *Cancer*, 2011, vol. 3, pp. 2516–2539.
8. Tesniere A., Panaretakis T., Kepp O., Apetoh L., Ghiringhelli F., Zitvogel L., Kroemer G. Molecular characteristics of immunogenic cancer cell death, *Cell seath siffer*, 2008, vol. 15, pp. 3–12.
9. Garg A.D., Agostinis P. ER stress, autophagy and immunogenic cell death in photodynamic therapy-induced anti-cancer immune responses, *Photochem photobiol sci*, 2014, vol. 13, pp. 474–487.
10. Kaplanski G., Marin V., Montero-Julian F., Mantovani A., Farnarier C. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation, *Trends Immunol*, 2003, vol. 24, pp. 25–29.
11. Cecic I., Stott B., Korbelik M. Acute phase response-associated systemic neutrophil mobilization in mice bearing tumors treated by photodynamic therapy, *Int immunopharmacol*, 2006, vol. 6, pp. 1259–1266.
12. Todryk S., Melcher A.A., Hardwick N., Linardakis E., Bateman A., Colombo M.P., Stoppacciaro A., Vile R.G. Heat shock protein 70 induced during tumor cell killing induces Th1 cytokines and targets immature dendritic cell precursors to enhance antigen uptake, *J Immunol*, 1999, vol. 163, pp. 1398–1408.
13. Huang H.C., Mallidi S., Liu J., Chiang C.T., Mai Z., Goldschmidt R., Ebrahim-Zadeh N., Rizvi I., Hasan T. Photodynamic Therapy Synergizes with Irinotecan to Overcome Compensatory Mechanisms and Improve Treatment Outcomes in Pancreatic Cancer, *Cancer res*, 2016, vol. 76, p. 1066–1077.
14. Chen B., Pogue B.W., Hoopes P.J. Vascular and cellular targeting for photodynamic therapy, *Crit rev. Eukaryot gene expr*, 2006, vol. 16, pp. 279–306.
15. Hamsch P., Istomin Y.P., Tzerkovsky D.A., Patties I., Neuhaus J., Kortmann R.D., Schastak S., Glasow A. Efficient cell death induction in human glioblastoma cells by photodynamic treatment with Tetrahydroporphyrin-Tetratosylat (THPTS) and ionizing irradiation, *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 42, pp. 72411–72423.
16. Tirapelli L.F., Morgueti M., da Cunha Tirapelli D.P., Bagnato V.S., Ferreira J., Neto F.S., Peria F.M., Oliveira H.F., Junior C.G. Apoptosis in glioma cells treated with PDT, *Photomed Laser Surg*, 2011, vol. 29, no. 5, pp. 305–309.
17. Miki Y., Akimoto J., Yokoyama S., Homma T., Tsutsumi M., Haraoka J., Hirano K., Beppu M. Photodynamic Therapy in Combination with Talaporfin Sodium Induces Mitochondrial Apoptotic Cell Death Accompanied with Necrosis in Glioma Cells, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2013, vol. 36, is. 2, pp. 215–221.
18. Yuan S.X., Li J.L., Xu X.K. Underlying mechanism of the photodynamic activity of hematoporphyrin-induced apoptosis in U87 glioma cells, *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, vol. 41, is. 4, pp. 2288–2296.
19. Fisher C.J., Niu C., Foltz W., Chen Y., Sidorova-Darmos E., Eubanks J.H., Lilge L. ALA-PpIX mediated photodynamic therapy of malignant gliomas augmented by hypothermia, *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 7, e0181654.
20. Boeuf-Murailleab G., Rigauxa G., Callewaert M., Callewaert M., Zambrano N., Van Gulick L., Roullin V.G., Terryn C., Andry M.C.,

22. Рында, А.Ю., Олюшин В.Е., Ростовцев Д.М. Фотодинамическая терапия глиом головного мозга – отдаленные результаты // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2017. – № 2 (58). – С. 68–72.
23. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy // *Biochem j.* – 2016. – Vol. 473, № 4. – P.347–364.
24. Shimizu K., Nitta M., Komori T., et al. Intraoperative Photodynamic Diagnosis Using Talaporfin Sodium Simultaneously Applied for Photodynamic Therapy against Malignant Glioma: A Prospective Clinical Study // *Front neurol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1–9.
25. Osman H., Elsayh D., Saadatzaheh M.R., et al. Acridine Orange as a Novel Photosensitizer for Photodynamic Therapy in Glioblastoma // *World Neurosurgery.* – 2018. – Vol. 114. – P. e1310–e1315.
26. Nitta M., Muragaki Y., Maruyama T., et al. Role of photodynamic therapy (PDT) using talaporfin sodium and semiconductor laser on prognosis of patients with newly diagnosed glioblastoma // *Neuro-oncol.* – 2017. – Vol. 19, Suppl. 6, No. 6. – P. 20.
27. Kaneko S., Okura S.I., Tanaka T. Photodynamic applications (PDD, PDT) using aminolevulinic acid in neurosurgery / Aminolevulinic acid. Science, technology and application by Okura I., Tanaka T.R. as eds. – SBI ALA Promo Co., Ltd., 2015. – P. 119–140.
28. Singh K., Kouli O., Kanodia A., et al. Comparing Outcomes in Glioblastoma Multiforme patients undergoing Photodynamic Therapy with a Second-Generation Photosensitizer vs 5-Aminolevulinic Acid – A Single Site Retrospective Analysis // *Neuro-Oncology.* – 2018. – Vol. 20, Suppl.3. – P. 265.
29. Dupont C., Reyns N., Deleporte P., et al. Intraoperative photodynamic treatment for high-grade gliomas // *SPIE Proceedings Photodynamic Therapy VI.* – 2017. – Vol. 10047.
- Chuburu F., Dukic S., Molinari M. Evaluation of mTHPC-loaded PLGA nanoparticles for in vitro photodynamic therapy on C6 glioma cell line, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2019, vol. 25, pp. 448–455.
21. Rynda A., Rostovtsev D., Olyushin V., Zabrodskaia Yu.M. Fluorescence-Guided Resection of glial brain tumors with Fotoditazin, *Journal of Surgery*, 2018, vol. 6, is. 5, pp. 116–122.
22. Rynda A.Y., Olyushin V.E., Rostovtsev D.M. Photodynamic therapy of cerebral glioma – long term survival, *Vestnik Rossiiskoi Voenno-Meditsinskoi Akademii*, 2017, vol. 2, no. 58, pp. 68–72. (in Russ.)
23. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy, *Biochem j.* 2016, vol. 473, no. 4, pp. 347–364.
24. Shimizu K., Nitta M., Komori T., et al. Intraoperative Photodynamic Diagnosis Using Talaporfin Sodium Simultaneously Applied for Photodynamic Therapy against Malignant Glioma: A Prospective Clinical Study, *Front neurol*, 2018, vol. 9, pp. 1–9.
25. Osman H., Elsayh D., Saadatzaheh M.R., Maruyama T., Yasuda T., Fujii Y., Masamune K., Kawamata T., Maehara T., Muragaki Y. Acridine Orange as a Novel Photosensitizer for Photodynamic Therapy in Glioblastoma, *World Neurosurgery*, 2018, vol. 114, e1310–e1315.
26. Nitta M., Muragaki Y., Maruyama T., Iseki H., Komori T., Ikuta S., Saito T., Yasuda T., Hosono J., Okamoto S., Koriyama S., Kawamata T. Role of photodynamic therapy (PDT) using talaporfin sodium and semiconductor laser on prognosis of patients with newly diagnosed glioblastoma, *Neuro-oncol*, 2017, vol. 19, suppl. 6, no. 6, p. 20.
27. Kaneko S., Okura S.I., Tanaka T. Photodynamic applications (PDD, PDT) using aminolevulinic acid in neurosurgery in *Aminolevulinic Acid, Science, technology and application.* Okura I., Tanaka T.R. Eds. SBI ALA Promo Co., Ltd, 2015. pp. 119–140.
28. Singh K., Kouli O., Kanodia A., Goodman C., Eadie E., Ibbotson S.H., Hossain-Ibrahim K. Comparing Outcomes in Glioblastoma Multiforme patients undergoing Photodynamic Therapy with a Second-Generation Photosensitizer vs 5-Aminolevulinic Acid – A Single Site Retrospective Analysis, *Neuro-Oncology*, 2018, vol. 20, suppl. 3, pp. 265.
29. Dupont C., Reyns N., Deleporte P., et al. Intraoperative photodynamic treatment for high-grade gliomas, *SPIE Proceedings Photodynamic Therapy VI*, 2017, vol. 10047.