



ХЛОРИН Е6 ОБУСЛОВЛЕННАЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ НАВИГАЦИЯ В ХИРУРГИИ ГЛИОМ

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

«Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени проф. А. Л. Поленова» — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ. Флуоресцентная навигация в хирургии глиом все чаще используется в последние годы. В большинстве исследований в качестве индуктора флуоресценции применяются производные 5-аминолевулиновой кислоты (5АЛА). Сведений в литературных источниках относительно использования препаратов группы хлоринов Е6 достаточно скудны.

ЦЕЛЬ: оценить эффективность и возможность применения флуоресцентной навигации с хлорином Е6 в хирургии глиом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследование включены 30 пациентов с глиальными опухолями разной степени злокачественности по Grade (II–IV). Все пациенты оперированы на базе РНХИ им. проф. А. Л. Поленова. Для визуального изучения флуоресценции использовалось оборудование в виде операционного микроскопа Leica OHS, установку «D-Light AF System» Karl Storz (Германия), флуоресцентного модуля собственного производства (СПб ЛОМО, разработка Г. В. Папаян) и специального программного обеспечения RSS Cam — Endo 1.4.313. Для гистологического изучения биоптатов приняли окраску гематоксилин-эозин и иммуногистохимические исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Подтверждено на гистологическом уровне, что интенсивность флуоресценции была слабой у всех пациентов с глиомами Grade II и сильной почти у всех пациентов с глиомами Grade III–IV. Чувствительность метода флуоресцентной диагностики с хлорином е6 для глиом Grade II составила 72,2 %, для глиом Grade III — 83,8 %, для Grade IV — 87,7 %. Специфичность метода составила для глиом Grade II 60 %, для глиом Grade III — 66,7 %, для Grade IV — 85,2 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Применение определенной системы флуоресцентной визуализации позволило проводить резекцию глиальных опухолей головного мозга с использованием хлорина Е6, а интенсивность флуоресценции опухолей коррелировала со степенью злокачественности глиомы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глиома, флуоресцентная навигация, хлорин Е6.

Для цитирования: Рында А. Ю., Олюшин В. Е., Ростовцев Д. М., Забродская Ю. М., Папаян Г. В., Тастанбеков М. М. Хлорин Е6 обусловленная флуоресцентная навигация в хирургии глиом. Российский нейрохирургический журнал им. проф. А. Л. Поленова. 2022;14(1-2):95–98

CHLORINE E6 CONDITIONED FLUORESCENT NAVIGATION IN GLIOMA SURGERY

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

“Russian Research Neurosurgical Institute named after prof. A. L. Polenova” — a branch of the Federal State Budgetary Institution “NMITs im. V. A. Almazov” Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg

SUMMARY. Fluorescent navigation in glioma surgery has been increasingly used in recent years. In most studies, 5-aminolevulinic acid derivatives (SALA) are used as fluorescence inducers. Information in the literature regarding the use of drugs from the E6 chlorin group is rather scarce.

PURPOSE OF THE STUDY. To evaluate the effectiveness and possibility of using fluorescent navigation with chlorin E6 in glioma surgery.

MATERIALS AND METHODS. The study included 30 patients with glial tumors of varying degrees of malignancy according to Grade (II–IV). All patients were operated on at the RNHI named after N.N. prof. A. L. Polenov. For visual study of fluorescence, equipment was used in the form of a Leica OHS operating microscope, the D-Light AF System by Karl Storz (Germany), a fluorescent module of our own production (St. Petersburg LOMO, developed by G. V. Papayan) and special software RSS Cam — Endo 1.4.313. For the histological study of biopsy specimens, hematoxylin-eosin staining and immunohistochemical studies were taken.

RESULTS. It was confirmed at the histological level that the fluorescence intensity was weak in all patients with Grade II gliomas and strong in almost all patients with Grade III–IV gliomas. The sensitivity of the method of fluorescent diagnostics with chlorin e6 for Grade II gliomas was 72.2 %, for Grade III gliomas — 83.8 %, for Grade IV — 87.7 %. The specificity of the method was 60 % for Grade II gliomas, 66.7 % for Grade III gliomas, and 85.2 % for Grade IV gliomas.

CONCLUSION. The use of a certain fluorescent imaging system made it possible to resect glial brain tumors using chlorin E6, and the intensity of tumor fluorescence correlated with the grade of glioma malignancy.

KEY WORDS: glioma, fluorescent navigation, E6 chlorin.

For citation: Rynda A. Yu., Olyushin V. E., Rostovtsev D. M., Zabrodskaya Yu. M., Papayan G. V., Tastanbekov M. M. Chlorine E6 conditioned fluorescent navigation in glioma surgery. The Russian Neurosurgical Journal named after prof. A.L. Polenov. 2022;14(1-2):95–98

Введение. Тотальное удаление глиальных опухолей головного мозга остается проблемой для нейрохирургии. Максимально безопасная резекция важна поскольку увеличивает межрецидивный интервал, но и повышает общую выживаемость, и эффективность проводимой адъювантной терапии. Однако способность к инвазии и отсутствие четких границ глиальной опухоли затрудняет достижение полной резекции в ходе операции. В последние годы разработка новых методик для визуализации глиальных опухолей головного мозга позволили выйти на новый уровень в хирургии глиом. Одной из таких методик является флуоресцентная хирургия с использованием флуоресцентных различных групп, и широко используется в хирургии глиомы во всем мире [1, 2].

Наиболее распространенным в мире флуоресцентом в хирургии глиомы является производное 5-аминолевулиновой кислоты, реже применяют флуоресцеин натрий и индоциан зеленый, крайне редко хлорины. Другие флуорофоры такие как, гиперерцин, акридиново-оранжевый (окрашивание ДНК, РНК и лизосом), акрифлавин (окраска мембран и ДНК), крезил фиолетовый (окрашивание эндоплазматического ретикулума и цитоплазмы) и сульфоподадим 101 (окраска цитоплазмы глиальных клеток) используются ещё реже. Хлорин е6 относят к веществам с пассивной маркировкой опухолевой ткани, возникающей при повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера в зоне опухоли, что позволяет экзогенным веществам накапливаться и удерживаться в глиальной опухолевой ткани. Таким образом хлорин е6 проникает в цитоплазму клетки путем эндоцитоза и пассивной диффузии, накапливается в лизосомах, эндосомах и эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи [2–5].

Целью данного исследования была оценка эффективности флуоресцентной навигации с хлорином е6 в хирургии глиом.

Материалы и методы. В исследование включены 30 пациентов, оперированных в отделении хирургии опухолей головного и спинного мозга РНХИ им. профессора А. Л. Поленова с 2014–2018 гг., с морфологически установленным диагнозом глиальной опухоли. Женщин — 11, мужчин — 19. Медиана возраста пациента составила 51,8 лет. Все опухоли располагались супратенториально. Распределение пациентов в зависимости от степени злокачественности опухоли по классификации Grade (ВОЗ 2016г) было следующим: Grade II (5 пациентов): 2 — фибриллярно-протоплазматические астроцитомы, 2 — олигоа-

строцитомы, 1 — олигодендроглиома; Grade III (10 пациентов): 7 — анапластических астроцитом, 1 — анапластическая олигодендроглиома, 2 — анапластические олигоастроцитомы; Grade IV (15 пациентов): 14 — глиобластом, 1 — глиосаркома.

Все больные обеих групп были обследованы в рамках нейрохирургического диагностического комплекса, который включал: сбор анамнеза, оценку объективного статуса больного, оценка функционального состояния по шкале Карновского, до- и послеоперационный осмотр смежными специалистами: нейроофтальмологом, оториноларингологом, неврологом, терапевтом, анестезиологом.

В качестве индуктора флуоресценции использован хлорин е6 — фотодитазин. Фотодитазин — препарат для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии злокачественных опухолей производства ООО «Вета-Гранд» Россия (пат. РФ 2144538 от 20.01.1998, номер регистрационного удостоверения ЛС-001246 от 18.05.12).

Интраоперационная флуоресцентная навигация с препаратом хлорин е6 проводилась с использованием операционного микроскопа (LEICA OHS-1) с установкой «D-Light AF System» Karl Storz (Германия) и флуоресцентной приставки отечественного производства ЛОМО (г. Санкт-Петербург) (разработка Г. В. Папаяна).

При помощи программного обеспечения RSS Cam — Endo 1.4.313 оценивали интенсивность флуоресценции в выбранном месте объекта, а также осуществляли фото- и видеорегистрацию изображения в свете флуоресценции. Это позволяло с высоким цветовым контрастом определить ткань новообразования, накопившую хлорин е6, относительно ткани, в которую препарат не проник.

Эффективность флуоресцентной оценивалась по результатам сопоставления данных визуальной оценки флуоресценции, и морфологического исследования флуоресцирующей и не флуоресцирующей тканей. Для визуальной оценки интенсивности флуоресцентного эффекта использовали четырех-балльную шкалу: 0 — отсутствие видимой флуоресценции, 1 — слабое розовое свечение, 2 — красное свечение, 3 — ярко-красное свечение.

Ткань, накопившую фотосенсибилизатор, поэтапно удаляли под флуоресцентным контролем с учетом физиологической дозозависимости.

Во время операции производился забор биопсийного материала из участков опухолевой ткани, имеющих разную степень интенсивности флуоресценции.

У каждого пациента взяты участки в виде биопсийного материала с позитивной и с негативной флуоресценцией, часть из них отобраны в перифокальной зоне, всего более 250 биоптатов.

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования биопсийного материала проводили в соответствии со стандартным протоколом. У всех пациентов диагноз глиальной опухоли подтвержден гистологическим исследованием интраоперационного материала в соответствии с классификацией опухолей ЦНС Всемирной организации здравоохранения (2016).

Результаты. Установлено, что интраоперационная флуоресцентная диагностика с использованием хлорина е6 может идентифицировать участки мозга, инфильтрированные глиальными опухолевыми клетками, на основании различий в интенсивности флуоресценции.

Подтверждено на гистологическом уровне, что интенсивность флуоресценции была слабой у всех пациентов с глиомами Grade II и сильной почти у всех пациентов с глиомами Grade III–IV. Чувствительность метода флуоресцентной диагностики с хлорином е6 для глиом Grade II составила 72,2 %, для глиом Grade III — 83,8 %, для Grade IV — 87,7 %. Специфичность метода составила для глиом Grade II 60 %, для глиом Grade III — 66,7 %, для Grade IV — 85,2 %.

Зоне компактной части опухоли соответствовала высокая интенсивность флуоресценции (ярко-красное) (+++) (85 %), умеренная флуоресценция (красное) (++) (10 %), слабая флуоресценция (слабо-розовое) (+) (5 %), очень высокий индекс Ki-67, p53, а также высокий уровень экспрессии VEGF. В зоне клеточной инфильтрации отмечалась высокая интенсивность флуоресценции (+++) в 70 % случаев, умеренная флуоресценция (++) в 20 %, слабая флуоресценция (++) в 5 %, и отсутствие флуоресценции (–) в 5 % случаев, высокий индекс Ki-67, p53, и так-

же высокий уровень экспрессии VEGF. Зона некроза опухоли характеризовалась отсутствием флуоресценции (95 %) или очень слабой флуоресценцией (+) (5 %), низким индексом Ki-67, низким уровнем экспрессии белка p53 уровнем экспрессии VEGF (рисунок 1).

Обсуждение. Хлорин е6, который мы использовали, представляет собой фотосенсибилизатор, который можно использовать двумя способами, не только для фотодинамической терапии, но и для фотодиагностики. Данное исследование показало, что использование флуоресцентно-контролируемой резекции с хлорином е6 (фотодитазином) высокоэффективно у больных с глиальными опухолями головного мозга разной степени анаплазии.

Обнаружение того, что интенсивность флуоресценции зависела от степени гистологического злокачественности клеток глиомы, позволяет предположить, что интенсивность флуоресценции хлорина е6 отражает плотность опухолевых клеток, пролиферативную активность или развитость сосудистого компонента опухоли. Поэтому важно было изучить взаимосвязь интенсивности флуоресценции хлорина е6 с гистопатологическими данными.

Положительную оценку эффективности флуоресцентно-контролируемой резекции глиом головного мозга в сравнении с гистоморфологическими результатами дали множество авторов [1–7].

Ряд авторов дали положительную оценку корреляционной зависимости между индексом накопления флуоресцента в ткани и индикаторами пролиферативной активности (Ki-67 (MIB-1), CD 31, VEGF). При этом корреляционная связь с Ki-67 оказалась наиболее высокой [1, 2].

Заключение.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о эффективности и высокой селективности хлоринов е6 (фотодитазина) в хирургии глиальных опухолей разной степени анаплазии.

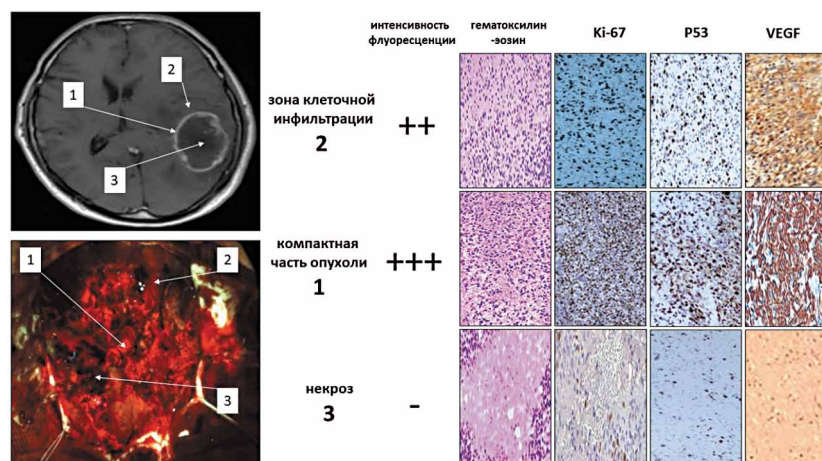


Рисунок 1. Анализ интенсивности флуоресценции различных зон опухоли в сравнении с патоморфологическим исследованием (гематоксилин-эозин, Ki-67, P53, VEGF) (Увеличение 200).

Figure. 1. Analysis of the fluorescence intensity of different tumor zones in comparison with pathological examination (hematoxylin-eosin, Ki-67, P53, VEGF) (Magnification 200).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. **Financing.** The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. **Compliance with patient rights and principles of bioethics.** All patients gave written informed consent to participate in the study.

ORCID авторов/ORCID of authors:

Рында Артёмий Юрьевич/Rynda Artemii Yurievich
— <https://orcid.org/0000-0002-3331-4175>.

Олюшин Виктор Емельянович/Olyushin Victor Emelyanovich
— <https://orcid.org/0000-0002-9960-081X>.

Ростовцев Дмитрий Михайлович/Rostovtsev Dmitry Mikhailovich
— <https://orcid.org/0000-0002-8956-7921>.

Забродская Юлия Михайловна/Zabrodskaia Yulia Mikhailovna
— <https://orcid.org/0000-0001-6206-2133>.

Папаян Гарри Вазгенович/Papayan Garry Vazgenovich
— <https://orcid.org/0000-0002-6462-9022>.

Тастанбеков Малик Маратович/Tastanbekov Malik Maratovich
— <https://orcid.org/0000-0003-3675-9302>.

Литература/ References.

- Senders JT, Muskens S, Schnoor R, Karhade AV, Cote DJ, Smith TR, Broekman MLD. Agents for fluorescence-guided glioma surgery: a systematic review of preclinical and clinical results. *Acta Neurochirurgica*. 2017; 159(1):151–167. <https://doi.org/10.1007/s00701-016-3028-5>
- Рында А.Ю., Ростовцев Д.М., Олюшин В.Е. Флуоресцентно-контролируемая резекция астроцитарных опухолей головного мозга — обзор литературы // Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова. — 2018. — Том X, No.1. — С. 97–110. [Rynda A. Yu., Rostovtsev D. M., Olyushin V. E. Fluorescence-Guided Resection of Glioma — literature review. *Russian Neurosurgical Journal named after professor A. L. Polenov*, 2018, vol. X, no.1, pp.97–110. (In Russ.)].
- Рында А.Ю., Забродская Ю.М., Олюшин В.Е., Ростовцев Д.М., Соколова Т.В., Папаян Г.В. Морфологическая оценка эффективности флуоресцентной навигации с хлорином е6 в хирургии злокачественных глиом // Архив патологии. — 2021. — Vol.83, No.5. — С.13–20. [Rynda A. Yu., Zabrodskaia Yu.M., Olyushin V. E., Rostovtsev D. M., Sokolova T. V., Papayan G. V. Morphological evaluation of the effectiveness of fluorescence navigation with chlorin e6 in surgery for malignant gliomas. *Arkhiv Patologii*, 2021, vol.83, no.5, pp.13–20. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/patol20218305113>
- Picartab T, Berhoumaac M, Dumotac C, Palluddef J, Metellusgh P, Armoiryijk X, Guyotata J. Optimization of high-grade glioma resection using 5-ALA fluorescence-guided surgery: A literature review and practical recommendations from the neuro-oncology club of the French society of neurosurgery. *Neurochirurgie*. 2019; 65(4):164–177. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2019.04.005>
- Рында А.Ю., Олюшин В.Е., Ростовцев Д.М., Забродская Ю.М., Тастанбеков М.М., Папаян Г.В. Результаты использования интраоперационного флуоресцентного контроля с хлорином Е6 при резекции глиальных опухолей головного мозга // Журнал «Вопросы нейрохирургии» имени Н.Н. Бурденко. — 2021. — Том 85, No.4. — С. 20–28. [Rynda A. Yu., Olyushin V. E., Rostovtsev D. M., Zabrodskaia Yu.M., Tastanbekov M. M., Papayan G. V. Intraoperative fluorescence control with chlorin E 6 in resection of glial brain tumors. *Zhurnal Voprosy Neirokhirurgii Imeni N. N. Burdenko*, 2021, vol.85, no.4, pp.20–28. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/neiro20218504120>
- Díez VR, Hadjipanayis CG, Stummer W. Established and emerging uses of 5-ALA in the brain: an overview. *Journal of Neuro-oncology*. 2019; 141:487–494. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-03087-7>
- Рында А.Ю., Ростовцев Д.М., Олюшин В.Е., Забродская Ю.М. Флуоресцентно-контролируемая резекция глиальных опухолей с «Фотодитазин». Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2017;176(5):10–15. [Rynda AYU, Rostovtsev DM, Olyushin VE, Zabrodskaia Yu M. Fluorescence-guided resection of glioma using «photoditazin». *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2017;176(5):10–15. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2017-176-5-10-15>