

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ГРЯЗОВ АНДРІЙ АНДРІЙОВИЧ

УДК: 616-089:615.849:616.831-006.484.04-07:575.113

ДИСЕРТАЦІЯ

**РАДІОХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ З ДІАГНОСТИЧНИМ
СУПРОВОДОМ ГЛІОБЛАСТОМ З УРАХУВАННЯМ МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПУХЛИНИ**

22 – охорона здоров'я

224 – технології медичної діагностики та лікування

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результат власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ А. А. Грязов

Науковий керівник:
Макеєв Сергій Сергійович
доктор медичних наук, старший
науковий співробітник

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Грязов А.А. Радіохірургічне лікування з діагностичним супроводом гліобластом з урахуванням молекулярно-генетичної структури пухлини. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 224 – Технології медичної діагностики та лікування. – Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, м. Київ, 2023.

У дисертації представлено результати радіохірургічного лікування гліобластом, в ході якої було вирішено ряд наукових задач, що дало можливість підвищити ефективність лікування з урахуванням молекулярних особливостей самої злоякісної пухлини головного мозку – гліобластоми, шляхом використання радіосенсибілізації при стереотаксичній радіохірургії, використання передопераційної радіохірургії, розроблення критеріїв прогнозу її ефективності та наукового обґрунтування алгоритму діагностичного супроводу пацієнтів.

З метою вирішення завдань наукової роботи у період з 2014 по 2021 рр. у відділенні радіонейрохірургії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» обстежено і проліковано методом стереотаксичної радіохірургії 166 пацієнтів з гліобластомою (WHO Grade IV).

Пацієнти були поділені на три когорти.

I. 106 пацієнтів, яким проводили радіохірургію з радіосенсибілізацією нітроїмідазолами (метронідазол і німоразол) – 66 хворих – основна група, та 40 – контрольна, у яких СРХ проведена без радіосенсибілізації.

II. 38 пацієнтів з рецидивною мультифокальною гліобластомою, яким було проведено радіохірургію з радіосенсибілізацією киснем.

III. 22 пацієнта, була проведена передопераційна радіохірургія.

Всі пацієнти проходили лікування на лінійному прискорювачі “Linac” фірми BrainLab за допомогою методу радіохірургічного опромінення.

Проводячи радіохірургічне лікування первинних гліобластом, ми враховували дані молекулярно-генетичної структури пухлини.

Стереотаксичну радіохірургію проводили за одну чи декілька фракцій (3 - 5 фракцій) 166 хворим (середній вік хворих 55 років, інтервал 28-82), 96 чоловіків (57,83%) та 70 жінок (42,16%).

При однофракційній СРХ середня доза становила 18,4 Гр. При СРХ за 5 фракцій, середня доза за фракцію становила 6,55 Гр, сумарна доза була 32,7 Гр (інтервал 25 - 40 Гр). Середній об'єм опромінених пухлин становив 29,21 см³, 66 пацієнтів були з первинними гліобластомами, 40 хворих - з рецидивними. 38 пацієнтів були з мультифокальною рецидивною гліобластоною, у яких радіосенсибілізацію проводили киснем.

Перед сеансом радіохірургії хворим обов'язково проводили дослідження оксигенації SpO₂ крові (кількість літрів за хвилину O₂), при необхідності піднімаючи вміст O₂ до 100%. За 2 години до СРХ хворі приймали перорально 2 г метронідазолу (МТН, М+), або 2 г німоразолу (НМР, Н+), або проводили інфузію кисню («киснева проба» (СРХ+O₂). Під час сеансу радіохірургії інфузія кисню здійснювалася під контролем датчика тиску, пульсу та рівня кисню у крові пацієнта.

МРТ проводилася за стандартними протоколами, а також включала дифузійно-зважені зображення (DWI) та дифузійно-тензорні зображення (DTI), з отриманням коефіцієнта дифузії ADC, та програму BOLD проводили до перфузії кисню, через 20 хвилин після перфузії кисню і потім ще раз після сеансу радіохірургії (через 40 хвилин). Тривалість сеансу перфузії кисню становила 20 хвилин з наступним проведенням сеансу радіохірургії.

Ми визначили, що гіпоксична зона зовнішнього кола гліобластоми виявляється тільки в програмі BOLD і тільки після "кисневої проби" до та після введення 95% кисню за допомогою оксигенатора. Найбільш чутливим прогностичним тестом для ефективності СРХ є МРТ DWI з визначенням коефіцієнта дифузії в ділянці проміжної гіпоксії (чутливість – 94,0%, специфічність – 83,1%), при цьому вищі показники специфічності (86,0%)

демонструє програма BOLD, найменш чутливі (82,0%) та специфічні (68,2%) показники ранньої об'ємної регресії пухлини.

На підставі отриманих даних з достовірною значущістю 0.0000 підтверджено, що збільшення показника ADC та зниження показників BOLD є предиктором ранньої відповіді на радіохірургічне лікування гліобластоми.

Ми визначили, що проміжна гіпоксія за даними ADC після CPX підвищується до значень: від $1,18 \pm 0,08$ - $1,26 \pm 0,06$, до $1,22 \pm 0,02$ - $1,28 \pm 0,08$, що може бути предиктором відповіді на радіохірургічне лікування, тобто прогностичним фактором.

Показник середнього загального виживання (СЗВ) становив в основній групі $28,7 \pm 1,6$ місяців (95%DI:25,5-31,9), в контрольній: $11,3 \pm 0,63$ місяців (95%DI:10,1-12,6) ($p < 0,0001$).

Показник середнього безрецидивного виживання (СБВ) в цілому становив в основній групі $20,4 \pm 1,0$ місяців (95%DI:18,3-22,4), в контрольній $8,3 \pm 0,4$ місяців (95%DI:7,4-9,2) ($p < 0,0001$).

СЗВ в групі з радіосенсибілізацією метронідазолом становило 21,7 місяців проти 10,9 місяців, в групі без радіосенсибілізації, в групі з німоразолом - 28,9 місяців проти 10,9 місяців, в контрольній групі, СБВ в групі з метронідазолом становило 17,5 місяців проти 7,9 місяців в контрольній групі, а в групі з німоразолом 20,3 місяців проти 7,9 місяців ($p < 0,0001$).

Достовірним показником кращого виживання були дані коефіцієнта дифузії (ADC) протягом першого тижня після CPX, збільшення яких було предиктором ефективності лікування та показало результати середнього загального виживання 25,3 місяців проти 11,7 місяців, коли показники ADC не збільшувалися ($p < 0,0001$), СБВ становило 20,7 місяців проти 9 місяців ($p < 0,0001$).

Важливими, хоч і статистично не значущими, були дані ступеня оксигенації та реоксигенації у програмі MPT BOLD, які корелювали з показниками середнього загального виживання: 28,7 місяців проти 10,9 місяців при незначній оксигенації ($p < 0,022$), та СБВ: 19,7 місяців проти 10 місяців ($p < 0,033$).

Показники статистичного аналізу (за методом Kaplan-Meier) доводять, що запропонований метод лікування демонструє достовірно значущі відмінності безрецидивного та загального виживання при радіохірургії гліобластом у пацієнтів з радіосенсибілізацією метронідазолом і німоразолом (основна група) та контрольної групи без радіосенсибілізації.

Таким чином, радіосенсибілізація при проведенні СРХ гіпоксичних радіорезистентних гліобластом покращує на 53,3% показники загального та на 24,8% безрецидивного виживання, в порівнянні з контрольною групою. Німоразол та метронідазол являються потужними радіосенсибілізаторами, які підвищують радіочутливість пухлинних клітин, шляхом збільшення кисневої насиченості гіпоксичних клітин.

У пацієнтів, які отримали СРХ з використанням радіосенсибілізації киснем (основна група), медіана загальної виживаності (МЗВ) склала 20 місяців порівняно з тими, хто отримав СРХ без неї (контрольна група) – 12 місяців, а безрецидивна виживаність (БВ) в основній групі склала 15 місяців, проти 8 місяців у контрольній ($p = 0,004$).

Кисень продемонстрував себе як ефективний радіосенсибілізатор при неоперабельних гліобластомах з мультифокальним ростом. Крім того, відсоток післяпроменевих радіаційних реакцій після СРХ становив 12,6%, а у хворих, які отримували радіосенсибілізатори, цей показник склав лише 6,7%.

Радіосенсибілізація киснем при проведенні СРХ гіпоксичних радіорезистентних гліобластом покращує на 60,0% показники загального та на 53,3% безрецидивного виживання, в порівнянні з контрольною групою, а кисень є потужним радіосенсибілізатором, який підвищує радіочутливість пухлинних клітин, шляхом збільшення кисневої насиченості гіпоксичних клітин.

В Україні вперше була проведена передопераційна радіохірургія хворим з гліобластомою. Ми досліджували результати лікування 22 осіб, яким було проведено передопераційну СРХ.

Було встановлено зниження рівня експресії гену MGMT в тканині пухлини при передопераційному стереотаксичному опроміненні. Розрахунок значення

рангового U-критерію Манна – Уїтні показав статистично значущі відмінності між групою контролю та експериментальною групою у разі визначення показника експресії гену MGMT ($p \leq 0.01$).

Низький рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN (0,01 у.о.) встановлено у випадку рецидивної гліобластоми суб/супратенторіальної локалізації з ростом у мозолисте тіло і може мати негативне прогностичне значення при подальшому лікуванні.

При проведенні передопераційної СРХ нами були отримані такі результати: ознаки локального рецидиву в основній групі визначалися протягом 24 місяців у 3 пацієнтів (9,37%). У всіх випадках повторно було проведено СРХ; лептоменінгеальний відсів – відсутній; симптоматичний радіонекроз (СРН) – відсутній. Медіана загальної виживаності (МЗВ) становила у хворих з гліобластомою 20 місяців, медіана річної загальної виживаності (МРЗВ) склала 76,4%.

Ознаки локального рецидиву у контрольній групі визначалися протягом 12 місяців у 8 пацієнтів (25,0%). У 4 випадках була повторно проведено СРХ, у 2 – хірургічну резекцію, та у 2 – опромінення всього головного мозку.

Таким чином, можна стверджувати, що передопераційна СРХ забезпечує чудовий локальний контроль при лікуванні гліобластоми з дуже низьким ризиком радіонекроза (РН).

В роботі вперше проведено передопераційну СРХ та радіохірургічне лікування з використанням радіосенсибілізації імідазолами та киснем.

Результати роботи дозволили підвищити показники МЗВ та МБВ, та зменшити постпроменеві реакції.

Основні положення дослідження впроваджені в практику закладів охорони здоров'я, зокрема у ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України», в педагогічний процес на кафедрі ядерної медицини, радіаційної онкології та радіаційної безпеки Національного університету охорони здоров'я

імені П.Л. Шупика, висвітлені на науково-практичних конференціях, симпозиумах, з'їздах, конгресах.

Ключові слова: стереотаксична радіохірургія, гліобластома, мультифокальна рецидивна гліобластома, гіпоксія, лінійний прискорювач, радіосенсибілізатори, радіосенсибілізація, метронідазол, німоразол, кисень, передопераційна радіохірургія, променева терапія, радіорезистентність, генетичні маркери, прогнозування ефективності лікування.

ANNOTATION

Gryazov A.A. Radiosurgical treatment with diagnostic support for glioblastoma, taking into account the molecular genetic structure of the tumor. - Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 224 "Technologies of Medical Diagnostics and Treatment". – P.L. Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, 2023.

The dissertation presents the results of radiosurgical treatment of glioblastoma, during which a number of scientific problems were solved, which made it possible to increase the effectiveness of treatment taking into account the molecular features of the most malignant brain tumor - glioblastoma, through the use of radiosensitization during stereotaxic radiosurgery, the use of preoperative radiosurgery, the development of criteria for its prognosis efficiency and scientific justification of the algorithm of diagnostic support of patients.

In order to solve the problems of scientific work in the period from 2014 to 2021 in the department of radioneurosurgery of the State University "Institute of Neurosurgery named after Acad. A.P. Romodanova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" 166 patients with glioblastoma (WHO Grade IV) were examined and treated by the method of stereotaxic radiosurgery (WHO Grade IV).

Patients were divided into three cohorts.

I. 106 patients who underwent radiosurgery with radiosensitization with nitroimidazoles (metronidazole and nimorazole) - 66 patients - the main group, and 40 - the control group, in which SRH was performed without radiosensitization.

II. 38 patients with recurrent multifocal glioblastoma who underwent radiosurgery with oxygen radiosensitization.

III. 22 people underwent preoperative radiosurgery.

All patients underwent treatment on the linear accelerator "Linac" of the BrainLab company using the method of radiosurgical irradiation.

When conducting radiosurgical treatment of primary glioblastomas, we took into account the data of the molecular genetic structure of the tumor.

Stereotaxic radiosurgery was performed for one or more fractions (3-5 fractions) in 166 patients (average age of patients 55 years, interval 28-82), 96 men (57.83%), and 70 women (42.16%).

With single-fraction SRH, the average dose was 18.4 Gy. With SRH in 5 fractions, the average dose per fraction was 6.55 Gy, the total dose was 32.7 Gy (interval 25-40 Gy). The average volume of irradiated tumors was 29.21 cm³, 66 patients had primary glioblastomas, 40 patients had recurrent ones. 38 patients had multifocal recurrent glioblastoma in whom radiosensitization was performed with oxygen.

Before the radiosurgery session, patients must have their SpO₂ blood oxygenation (number of liters per minute of O₂) tested, if necessary raising the O₂ content to 100%. 2 hours before CPR, patients took orally 2 g of metronidazole (MTN, M+), or 2 g of nimorazole (HMP, H+), or oxygen infusion was performed ("oxygen test" (CPR+O₂). During the radiosurgery session, oxygen infusion was carried out under the control of a pressure, pulse and oxygen level sensor in the patient's blood.

MRI with standard protocols, as well as diffusion-weighted imaging (DWI), and diffusion tensor imaging (DTI), with ADC diffusion coefficient acquisition and BOLD program, were performed before oxygen perfusion, 20 minutes after oxygen perfusion, and then again after the radiosurgery session (in 40 minutes). The duration of the oxygen perfusion session was 20 minutes, followed by a radiosurgery session.

We determined that the hypoxic zone of the outer circle of glioblastoma is detected only in the BOLD program and only after the "oxygen test" before and after the introduction of 95% oxygen using an oxygenator. The most sensitive prognostic test for the effectiveness of CPR is MRI DWI with the definition of the diffusion coefficient in the area of intermediate hypoxia (sensitivity - 94.0%, specificity - 83.1%), while the highest specificity indicators (86.0) are demonstrated by the BOLD program, the least sensitive (82.0%) and specific (68.2%) indicators of early volumetric tumor regression.

On the basis of the obtained data, with a reliable significance of 0.0000, it was confirmed that an increase in the ADC index and a decrease in the BOLD index are predictors of early response to radiosurgical treatment of glioblastoma.

We determined that the intermediate hypoxia according to ADC data after CPR increases to values: from 1.18 ± 0.08 - 1.26 ± 0.06 to 1.22 ± 0.02 - 1.28 ± 0.08 , which can be a predictor of response to radiosurgical treatment, that is, a prognostic factor.

The average overall survival (OS) in the main group was 28.7 ± 1.6 (95%DI: 25.5-31.9), in the control group: 11.3 ± 0.63 (95%DI: 10.1 -12.6) ($p<0.0001$).

The overall mean recurrence-free survival rate was 20.4 ± 1.0 (95%DI:18.3-22.4) in the main group, 8.3 ± 0.4 (95%DI:7, 4-9.2) ($p<0.0001$).

OSV in the group with radiosensitization with metronidazole was 21.7 months versus 10.9, in the group without radiosensitization, in the group with nimorazole 28.9 months versus 10.9 months, in the control group, OSV in the group with metronidazole was 17.5 months versus 7.9 months in the control group, and 20.3 months versus 7.9 months in the nimorazole group ($p<0.0001$).

A reliable indicator of better survival was the data of the diffusion coefficient (ADC) during the first week after CRP, the increase of which was a predictor of the effectiveness of the treatment and showed the results of a mean overall survival of 25.3 months compared to 11.7 months when the indicators of ADV did not increase ($p<0.0001$), OSV was 20.7 months versus 9 months ($p<0.0001$).

Important, although not statistically significant, were the data on the degree of oxygenation and reoxygenation in the MRI BOLD program, which were correlated with the indicators of the average overall survival: 28.7 months, against 10.9 months with negligible oxygenation ($p<0.022$), and SBS 19.7 months versus 10 months ($p<0.033$).

Indicators of statistical analysis (according to the Kaplan-Meier method) prove that the proposed method of treatment demonstrates reliably significant differences in recurrence-free and overall survival during radiosurgery for glioblastoma in patients with radiosensitization with metronidazole and nimorazole (the main group) and the control group without radiosensitization.

Thus, radiosensitization during SRH of hypoxic radioresistant glioblastomas improves overall survival by 53.3% and recurrence-free survival by 24.8% compared to the control group. Nimorazole and metronidazole are powerful radiosensitizers that

increase the radiosensitivity of tumor cells by increasing the oxygen saturation of hypoxic cells.

Patients who received SRH with oxygen radiosensitization (core group) had a median overall survival (OS) of 20 months compared with 12 months in those who received SRH without it (control group), and relapse-free survival (FS) in the main group was 15 months, against 8 months in the control group ($p = 0.004$).

Oxygen has proven to be an effective radiosensitizer in inoperable glioblastomas with multifocal growth. In addition, the percentage of post-radiation radiation reactions after SRH was 12.6%, and in patients who received radiosensitizers, this indicator was only 6.7%.

Radiosensitization with oxygen during CRC of hypoxic radioresistant glioblastomas improves overall and relapse-free survival by 60.0% and 53.3% compared to the control group, and oxygen is a powerful radiosensitizer that increases the radiosensitivity of tumor cells by increasing the oxygen saturation of hypoxic cells.

For the first time in Ukraine, preoperative radiosurgery was performed for patients with glioblastoma. We studied the results of treatment of 22 people who underwent preoperative SRH.

A decrease in the level of MGMT gene expression in tumor tissue was established during preoperative stereotaxic irradiation. The calculation of the value of the Mann-Whitney U-test showed statistically significant differences between the control group and the experimental group in the case of determination of the MGMT gene expression index ($p \leq 0.01$).

A low level of the normalized expression index of the PTEN gene (0.01 u.o.) was established in the case of recurrent glioblastoma of sub/supratentorial localization with growth in the corpus callosum and may have a negative prognostic value in further treatment.

When conducting preoperative CRC, we obtained the following results: signs of local recurrence in the main group were determined within 24 months in 3 patients (9.37%). In all cases, SRH was repeated; leptomeningeal separation - absent; symptomatic radionecrosis (SRN) - absent. The median overall survival (MSV) in

patients with glioblastoma was 20 months, the median annual overall survival (MSV) was 76.4%.

Signs of local recurrence in the control group were determined within 12 months in 8 patients (25.0%). In 4 cases, SRH was repeated, in 2 - surgical resection, and in 2 - irradiation of the whole brain.

Thus, it can be argued that preoperative CRC provides excellent local control in the treatment of glioblastoma with a very low risk of radionecrosis (RN).

In the work, for the first time, preoperative SRH and radiosurgical treatment using radiosensitization with imidazoles and oxygen were performed.

The results of the work made it possible to increase the indicators of MZV and MBV, and reduce post-radiation reactions.

The main provisions of the study are implemented in the practice of health care institutions, in particular at the State University "Institute of Neurosurgery named after Acad. A.P. Romodanova of the National Academy of Sciences of Ukraine, State University "Institute of Nuclear Medicine and Radiodiagnostics of the National Academy of Sciences of Ukraine", in the pedagogical process at the Department of Nuclear Medicine, Radiation Oncology and Radiation Safety of the P.L. Shupyk National Healthcare University of Ukraine, highlighted at scientific and practical conferences, symposia, congresses.

Key words: stereotaxic radiosurgery, glioblastoma, multifocal recurrent glioblastoma, hypoxia, linear accelerator, radiosensitizers, radiosensitization, metronidazole, nimorazole, oxygen, preoperative radiosurgery, radiation therapy, radioresistance, genetic markers, prediction of treatment effectiveness.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Gryazov A.B., Medvedovska Yu.V., Gryazov A.A. Differential diagnostics of a radionecrosis and local tumoral recurrence according to arterial spin labeling after radiosurgery treatment of malignant gliomas of a brain. *Wiad. Lek.* 2020; 73(10): 2160-2164. PMID: 33310940.
2. Gryazov A.A., Lysiany M.I., Gryazov A.B., Medvedovska Y.V. Assessment of the state of immune system in patients with metastatic and glial brain tumors at the preparatory stage of radiotherapy. *Wiad Lek.* 2022; 75(7): 1747-1751. doi:10.36740/WLek202207125. PMID: 35962692.
3. Glavatskyi O.Ya., Griazov A.B., Chuvashova O.Yu., Kruchok I.V., Griazov A.A., Khmelnytskyi H.V., Shuba I.M., Stuley V.A, Zemskova O.V. Radiosurgical treatment of recurrent glioblastoma and prognostic factors affecting treatment outcomes. *Exp Oncol.* 2022 Dec;44(4):307-313.doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-4.18920.
4. Грязов А., Грязов А., Гридiна Н., Стулей В. Стереотаксична радіохірургія радіорезистентних гліобластом. Шляхи подолання радіорезистентності гіпоксичних пухлин. *Український радіологічний та онкологічний журнал.* (2022); 30(2): 25-40. <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2022.25-40>.
5. Грязов А. А., Лісяний М. І., Грязов А. Б. Особливості імунного статусу у хворих з метастатичними та гліальними пухлинами головного мозку на підготовчому етапі променевого лікування. *Український радіологічний та онкологічний журнал.* 2020; 28(4): 353-363. <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2020.353-363>.
6. Грязов А.А. Сопоставление динамически чувствительной магнитно-резонансной томографической перфузии и неинвазивной артериальной спин маркировки в диагностике степени злокачественности глиом. *Український радіологічний журнал.* 2018; 26(2): 74-79.
7. Грязов А., Главацький О., Земскова О., Грязов А., Чувашова О., Хмельницький Г., Шуба І., Кручок І., Шевельов М., Стулей В. Вживаність після радіохірургічного лікування рецидивних гліобластом у хворих із радикальною

- резекцією первинної пухлини. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2022; 128(1): 57-73. [https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(128\).2022.57-73](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(128).2022.57-73).
8. Грязов А.Б., Земскова О.В., Грязов А.А. Етапність стереотаксичної радіохірургії в лікуванні рецидивних гліобластом. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2022; 28 (2): 46–53. <https://doi: 10.25305/unj.257785>.
 9. Грязов А.Б., Грязов А.А. Сучасні методи візуалізації у визначенні ефективності стереотаксичної радіохірургії в лікуванні хворих з гліобластомами. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Перспективи розвитку медицини в країнах ЄС та в Україні", Влоцлавек, Республіка Польща. 21 – 22 грудня 2018 р. С. 21.
 10. Грязов А.Б., Макеев С.С., Грязов А.А. Діагностичний супровід планування радіохірургічного лікування порожнини злоякісних гліом після хірургічної резекції. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих». Київ, 23–25 жовтня 2019. С. 77.
 11. Грязов А.Б., Чувашова О.Ю., Колесник С.П., Грязов А.А. Новый подход к радиохирургическому лечению опухолей головного мозга с использованием комплексных данных функциональной МРТ и диффузно-тензорной трактографии. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих». Київ, 23–25 жовтня 2019. С. 75.
 12. Грязов А.Б., Грязов А.А. Показники вимірюваного коефіцієнта дифузії та швидкості і об'єму мозкового кровотоку у диференціальній діагностиці постпроменеви́х змін та рецидиву пухлини після радіохірургічного лікування гліобластом. Annual Conference of the Ukrainian Association of Neurosurgeons "The Ways to Improve the Functional Results of Treatment in Neurosurgery" (Polyanytsya village, March 13-15, 2019) Bukovel, Ukraine. С. 24-25.
 13. Главацький О.Я., Земскова О.В., Грязов А.А., Грязов А.Б., Васил'єва І.Г., Шуба І.М. Радіохірургічне лікування рецидивів гліобластом із застосуванням комбінації антиангіогенного та цитостатичного засобів. Матеріали науково-

практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю “Організація та сучасні принципи надання спеціалізованої нейрохірургічної допомоги хворим на мозковий інсульт”. Вінниця, 5 – 7 вересня 2018 р.

- 14.Главацький О., Земскова О., Шуба І., Грязов А.А., Хмельницький Г., Грязов А.Б. Комбінована терапія рецидиву гліобластом радіохірургічно з наступним використанням антиангіогенних та цитостатичних препаратів. Матеріали II Науково-практичної конференції з міжнародною участю “Пухлини центральної нервової системи. Мультидисциплінарний підхід”. Харків, 18 – 20 жовтня 2018 р. С. 20.
- 15.Грязов А.А., Лісяний М.І., Грязов А.Б., Потапова А.Г. Особливості імунної системи у хворих з метастатичними та гліальними пухлинами головного мозку на підготовчому етапі променевого лікування. VII з’їзд нейрохірургів України з міжнар. участю, 11-18 травня 2021 р., Сіде, Туреччина. Тези. Київ-Сіде, 2021. С. 4.
- 16.Грязов А.Б., Грязов А.А. Нові технології лікування метастатичних пухлин головного мозку із застосуванням передопераційного стереотаксичного опромінення //VII з’їзд нейрохірургів України з міжнар. участю, 11-18 травня 2021 р., Сіде, Туреччина. Тези. Київ-Сіде, 2021. С. 36.
- 17.Грязов А.Б., Главацкий А.Я., Земскова О.В., Грязов А.А. Радиохирургическое лечение злокачественных опухолей головного мозга с применением радиосенсибилизаторов. Евразийский Союз Ученых. 2017. №2. С.42–50.
18. Грязов А.А., Грязов А.Б., Чувашова О.Ю. Диференціальна діагностика постпроменевих змін та рецидиву злоякісних гліом головного мозку після радіохірургічного лікування за даними волюметрії і показників дифузії. VIII Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров’я України», 17-19 квітня 2019 р. м. Київ. К., 2019. С. 81.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕННЯ І ТЕРМІНІВ.....	18
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1. РАДІОХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ ГЛІОБЛАСТОМИ З ДІАГНОСТИЧНИМ СУПРОВОДОМ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	25
1.1. Загальна характеристика гліобластоми.....	25
1.2. Варіанти лікування гліобластоми.....	28
1.3. Поточний стан променевої терапії ГБМ. Радіорезистентність. Гіпоксія.....	29
1.4. Радіосенсибілізатори при лікуванні гліобластоми.....	37
1.5. Генетичні маркери прогнозування ефективності лікування гліобластоми.....	40
1.6. Передопераційна радіохірургія гліобластом.....	43
РОЗДІЛ 2. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ, МЕТОДІВ ОБСТЕЖЕННЯ, РАДІОХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ І СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ.....	45
2.1. Загальна характеристика хворих.....	45
2.2. Планування радіохірургічного лікування та діагностичний супровід.....	50
2.3. Діагностичний супровід після стереотаксичної радіохірургії.....	52
2.4. Стереотаксична радіохірургія гліобластом з радіосенсибілізацією.....	53
2.5. Молекулярно-генетичні та імунологічні дослідження.....	54
2.6. Методи статистичного аналізу.....	59
РОЗДІЛ 3. ДІАГНОСТИЧНИЙ СУПРОВІД РАДІОХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ГЛІОБЛАСТОМИ З ВИКОРИСТАННЯМ РАДІОСЕНСИБІЛІЗАТОРІВ.....	67
3.1. Діагностичні показники клітинної гіпоксії за даними МРТ та проби з киснем. Закономірність змін вимірюваного коефіцієнта дифузії при радіохірургічному лікуванні гліобластом з використанням радіосенсибілізації... 3.2. Радіохірургічне лікування гліобластоми з використанням радіосенсибілізаторів (нітроїмідазолів).....	67 80

3.3. Радіохірургічне лікування рецидивних мультифокальних гліобластом з використанням кисню, як радіосенсибілізатора.....	97
РОЗДІЛ 4. ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНЕ РАДІОХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ ГЛІОБЛАСТОМИ.....	109
4.1. Біохімічні показники прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми з урахуванням молекулярно-генетичної структури пухлини.....	109
4.2. Методика молекулярно-генетичних досліджень.....	110
4.3. Імунологічні показники прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми.....	122
4.4. Особливості імунного статусу.....	124
4.5. Переваги передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми.....	127
4.6. Результати і показники ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми.....	129
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	135
ВИСНОВКИ.....	158
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	161
ДОДАТОК.....	181

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕННЯ І ТЕРМІНІВ**

РС	—	радіосенсибілізатори, радіосенсибілізація
ІК	—	індекс Карновського
ГБМ	—	гліобластома
ЛК	—	локальний контроль
ЛР	—	локальний рецидив
ЛП	—	лінійний прискорювач
МТН	—	метронідазол
МСКТ	—	мультиспіральна комп'ютерна томографія
МСКТ-ПП	—	МСКТ-перфузіографія
МРТ	—	магнітно-резонансна томографія
МРТ-ПП	—	МРТ-перфузіографія
НМР	—	німоразол
O ²	—	кисень
ОВГМ	—	опромінення всього головного мозку
ОК	—	осередковий коефіцієнт
ОФЕКТ	—	одnofотонна емісійна комп'ютерна томографія
ПП	—	псевдопрогресія
ПЕТ	—	позитронно-емісійна томографія
ПІС	—	пік інтенсивності сигналу
ПНП	—	пік насичення пухлини
ПТ	—	променева терапія
РВД	—	разова вогнищева доза
РН	—	радіонекроз
СБ	—	стереотаксична біопсія
СБВ	—	середня безрецидивна виживаність
СВД	—	середня вогнищева доза
СЗВ	—	середня загальна виживаність

CPX	—	стереотаксична радіохірургія
TM3	—	темозоломід
XP	—	хірургічна резекція
ADC	—	вимірюваний коефіцієнт дифузії (apparent diffusion coefficient)
CI	—	довірчий інтервал (confidence interval)
DCE	—	MPT-перфузія з динамічним контрастуванням
DSC	—	MPT динамічно-сприйнятлива перфузія
DWI	—	дифузійно-зважене зображення
DTI	—	дифузійно-тензорне зображення
FA	—	фракційна анізотропія
FLAIR	—	різновид інверсії-відновлення
FOV	—	поле огляду
IDH	—	ген, який кодує ізоцитратдегідрогеназу
MGMT	—	ген Об-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази
MTT	—	середній час транзиту
PASL	—	пульсове артеріальне спін маркування
CBF	—	швидкість мозкового кровотоку
CBV	—	об'єм мозкового кровотоку
rCBF	—	регіональна швидкість мозкового кровотоку
rCBV	—	регіональний об'єм мозкового кровотоку
rCBF _{GB/GM}	—	відносна швидкість мозкового кровотоку
rCBV _{GB/GM}	—	відносний об'єм мозкового кровотоку
TR	—	час повторення
TTP	—	пік контрастування
T ₁ WI	—	зображення, зважене за T ₁
T ₂ WI	—	зображення, зважене за T ₂
T ₁ WI+c	—	контрастно посилене T ₁ -зважене зображення

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Гліобластома - найбільш поширена первинна злоякісна пухлина головного мозку, становить приблизно 50% діагнозів первинних пухлин головного мозку у Сполучених Штатах Америки [2, 3]. Пік захворюваності на ГБМ спостерігається у літніх пацієнтів і частіше спостерігається у чоловіків, ніж у жінок [3].

ГБМ - це високоагресивні пухлини з поганим прогнозом, які помітно стійкі до лікування [4, 5]. В умовах оптимального лікування медіана загальної виживаності (ЗВ) у пацієнтів з гліобластою коливається від 15 до 21 місяця, а 5-річне виживання складає <5% [6, 7, 8, 9, 10]. Незважаючи на успіхи хірургічного лікування, променевої терапії та хіміотерапевтичних стратегій, в останні роки, результати лікування пацієнтів з гліобластою в цілому залишаються незадовільними [6, 7, 8, 9].

Стереотаксична радіохірургія - це метод конформного опромінення, який дозволяє доставляти дозу іонізуючого випромінювання зі швидким градієнтом спаду дози за межами мішені. Це дозволяє зберегти довколишні здорові тканини від надлишкової дози опромінення [12, 13, 14]. Стереотаксична радіохірургія широко застосовується як при злоякісних, так і при доброякісних внутрішньочерепних патологіях [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 32, 33, 34, 35]. Проводиться вивчення індикаторів гіпоксії та можливості візуалізації гіпоксії як інструменту оцінки ранньої відповіді пухлини на радіохірургію та прогнозування віддалених результатів. Крім того, численні дослідження лікування гліобластоми показали, що СРХ здатна посилювати протипухлинний імунітет за рахунок змін у мікрооточенні пухлини і додатково посилювати внутрішньочерепні реакції на інгібітори імунних контрольних точок [36, 37, 38, 39]. У лікуванні гліобластоми в останні роки надається перевага передопераційній СРХ, особливо при метастазах у головний мозок [42]. Це пов'язано з нижчим ризиком вузлової лептоменінгеальної хвороби та меншими обсягами лікування в передопераційних умовах, що призводить до зниження ризику радіаційного

некрозу та токсичності нормальних тканин. Використання передопераційної СРХ у лікуванні гліобластоми вивчалось недостатньо. Тим не менше, є багато потенційних переваг використання передопераційної СРХ при гліобластомі, таких як опромінення більш високою дозою та результуючі зміни у мікрооточенні пухлини, які можуть посилити протипухлинний імунітет.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є фрагментами НДР ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»: «Розробити метод комплексного лікування метастатичних пухлин головного мозку із застосуванням передопераційного стереотаксичного опромінення», державна реєстрація № 0119U103917 (2019-2022 рр.), та «Розробити метод комплексного лікування гліобластом із застосуванням передопераційної стереотаксичної радіохірургії», державна реєстрація № 0115U000351 (2022-2025 рр.).

Мета дослідження: підвищення ефективності лікування хворих з гліобластомою в залежності від молекулярно-генетичної структури пухлини. Діагностичний супровід на всіх етапах, для покращення показників локального контролю росту пухлини, показників загального та безрецидивного виживання. Зменшити ризик розвитку післяпроменевої псевдопрогресії і радіонекрозу шляхом використання новітніх технологій проведення стереотаксичної передопераційної радіохірургії.

Завдання дослідження:

1. Визначити ефективність радіосенсибілізаторів (метронідазол, німоразол, кисень) при лікуванні гліобластоми.
2. Розробити методику передопераційної стереотаксичної радіохірургії у лікуванні гліобластоми, в тому числі рецидивуючої.
3. Обґрунтувати алгоритми діагностичного супроводу при радіохірургічному лікуванні гліобластоми.
4. Визначити ефективність передопераційної радіохірургії в комбінованому лікуванні гліобластоми.

5. Оцінити біохімічні показники з урахуванням молекулярно-генетичної структури пухлин та імунного статусу у прогнозуванні ефективності лікування гліобластоми.

6. Провести аналіз результатів радіохірургічного лікування гліобластоми.

Об'єкт дослідження: стереотаксична радіохірургія гліобластоми.

Предмет дослідження: вплив радіосенсибілізації на результати радіохірургічного лікування хворих з гліобластомою, вплив передопераційної радіохірургії на ефективність лікування гліобластоми, критерії прогнозу ефективності СРХ, включаючи показники загального та безрецидивного виживання, з урахуванням даних імунної відповіді, результатів біохімічного аналізу та молекулярної структури гліобластоми.

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, магнітно-резонансна томографія, мультиспіральна комп'ютерна томографія, патоморфологічні дослідження, біохімічне та імунологічні дослідження, статистичне та математичне моделювання.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше визначено критерії відбору хворих до груп радіохірургічного лікування з радіосенсибілізацією, з урахуванням біомаркерів пухлини, ступеня клітинної гіпоксії та молекулярно-генетичної структури пухлини.

У ході виконання роботи вперше розроблено методи радіохірургічного лікування хворих з гліобластомою з використанням радіосенсибілізаторів групи нітроїмідазолів, а також з рецидивною мультиформною гліобластомою з використанням кисню.

Вперше обґрунтовані покази та протипокази до радіохірургічного лікування вказаної групи хворих; проведено передопераційну радіохірургію, виявлено прогностичні фактори виживання в залежності від особливостей передопераційної стереотаксичної радіохірургії, імунологічних та біохімічних аспектів та патоморфологічних особливостей пухлин. Визначено особливості тактики радіохірургічного лікування залежно від молекулярної структури

пухлини. Розроблено науково обґрунтований алгоритм діагностичного супроводу пацієнтів.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження широко запроваджено у практичну діяльність Державної Установи "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова Національної академії медичних наук України" (м. Київ), ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики Національної академії медичних наук України». Результати досліджень включені до лекційного курсу кафедри ядерної медицини, радіаційної онкології та радіаційної безпеки НУОЗ України імені П.Л. Шупика. Результати висвітлено на наукових форумах.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним самостійним науковим дослідженням автора. Дисертантом самостійно визначено напрямок дослідження, проведений літературний та патентно – інформаційний пошук, сформульовано мету та завдання дослідження, проведено аналіз літератури з проблеми, розроблено основні теоретичні та практичні положення, сформульовані та обґрунтовані висновки. Створено комп'ютерну базу даних радіохірургічних втручань, протоколів, виписних епікризів, МСКТ- та МРТ-обстежень; обґрунтовано висновки та практичні рекомендації. Автору належить ідея та розробка використання передопераційної радіохірургії при радіохірургічному лікуванні гліобластоми та алгоритму діагностичного супроводу. Усі розділи дисертації написані та оформлені особисто здобувачем. Усі опубліковані роботи з теми дисертації, підготовлені автором самостійно або у співавторстві, не містять конфлікту інтересів.

Апробація матеріалів дисертації. Основні матеріали та положення дисертації викладено та обговорено на:

1. Науково-практичній конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Організація та сучасні принципи надання спеціалізованої нейрохірургічної допомоги хворим на мозковий інсульт» (м. Вінниця, 2018 р.).

2. II науково-практичній конференції з міжнародною участю «Пухлини центральної нервової системи. Мультидисциплінарний підхід», (м. Харків, 2018 р.).
3. Конференції Української Асоціації Нейрохірургів «The Ways to improve the functional results of treatment in neurosurgery», с. Поляниця, 2019 р.).
4. VIII Міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (м. Київ, 2019 р.).
5. Науково-практичній конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих» (м. Київ, 2019 р.).
6. Всеукраїнському з'їзді з радіохірургії та стереотаксичної променевої терапії з міжнародною участю (м. Київ, 2021 р.).
7. VII з'їзді нейрохірургів України з міжнародною участю (м. Сіде, Туреччина, 2021 р.).
8. Науково-практичній конференції Громадської організації «Українське товариство радіаційних онкологів» («УТРО») з міжнародною участю «Актуальні питання радіаційної онкології в Україні» (м. Львів, 2022 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 18 наукових праць, них 3 статті у наукових виданнях, включених на дату опублікування до переліку наукових фахових видань України, 5 статей у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у наукометричній базі Scopus, 10 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію викладено українською мовою на 183 сторінках машинопису. Дисертація складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, додатка. Робота ілюстрована 44 рисунками та містить 32 таблиці. Список використаних джерел містить 151 посилання.

РОЗДІЛ 1.

РАДІОХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ ГЛІОБЛАСТОМИ З ДІАГНОСТИЧНИМ СУПРОВОДОМ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Загальна характеристика гліобластоми

Епідеміологія та класифікація

Відомо, що захворюваність на ГБМ збільшується з віком пацієнта, при цьому пік захворюваності спостерігається у пацієнтів віком від 75 до 84 років [3]. Однак кумулятивно найбільша кількість хворих у передпенсійному віці [43]. У чоловіків гліобластому діагностують частіше ніж у жінок (5,6 проти 3,5 випадків на 100 000 населення). Крім того, білі дорослі неіспаномовного походження хворіють частіше, ніж дорослі чорношкірі неіспаномовного походження (5,1 проти 2,5 на 100 000 осіб). Підвищений ризик також спостерігався у пацієнтів із вищим соціально-економічним статусом; однак було показано, що цей зв'язок значущий тільки серед білих людей [44].

Більшість ГБМ виникають у півкулях головного мозку [45]. Хоча кілька генетичних синдромів, включаючи (але не обмежуючись ними) синдром Лі-Фраумені, нейрофіброматоз I та II та синдром Тюрко, можуть приводити людей до розвитку ГБМ, єдиним підтвердженим фактором ризику навколишнього середовища є іонізуюче випромінювання [46, 47].

Внутрішньомозкові злоякісні пухлини головного мозку незалежно від їх генезу, первинного чи метастатичного, залишаються однією із самих болючих і невирішених проблем нейроонкології. Проте, на відміну від гліальних пухлин, при яких хірургічний етап в їх лікуванні часто буває вирішальним, при метастатичних пухлинах, радіохірургічне лікування може бути йому альтернативою.

Історично діагноз ГБМ ґрунтувався лише на гістологічних ознаках. Як правило, ГБМ складаються з невеликих поліморфних клітин з підвищеним співвідношенням ядер та цитоплазми [48]. Двоядерні та/або багатоядерні гігантські клітини також можуть бути присутніми [49]. Проте, наявність

мікросудинної проліферації та/або некрозу потрібно, щоб дійсно відрізнити гліоми 4-го ступеня від гліом 2-го та 3-го ступеня [48, 50].

У 2016 р. класифікація пухлин центральної нервової системи Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) вперше включила молекулярні біомаркери до класифікації гліом [51]. В рамках цієї системи всі дифузно інфільтруючі гліоми, включаючи астроцитому, олігоастроцитому, олігодендрогліому та ГБМ, були згруповані разом як дифузні гліоми. Потім ця категорія була додатково підрозділена за класифікацією пухлин та ступенем на 15 окремих об'єктів. Гістологічно ГБМ були розділені на три широкі категорії на основі статусу ізоцитратдегідрогенази (IDH): (1) гліобластома, IDH-дикого типу: найчастіше зустрічається у літніх пацієнтів, найчастіше відповідає первинній ГБМ та охоплює приблизно 90% випадків; (2) гліобластома, мутація IDH: найчастіше зустрічається у молодих пацієнтів, найчастіше відповідає вторинній гліобластомі та охоплює приблизно 10% випадків; і (3) гліобластома, яка була зарезервована для пухлин, при яких неможливо було виконати повне тестування IDH [50]. Пацієнти з гліобластомою, із IDH-мутацією, мають кращий прогноз, ніж пацієнти з гліобластомою, IDH-дикий тип [52, 53].

Нещодавно розроблена ВООЗ класифікація пухлин центральної нервової системи 2021 р. була заснована на роботі, проведеній цільовою групою ВООЗ у 2016 р. [54]. Відповідно до нової структури класифікація пухлини була виключена з класифікатора у сімействі дифузних гліом дорослого типу, що дозволило надалі розділити її лише на три категорії: астроцитому, IDH-мутантна; олігодендрогліому, IDH-мутантна та 1p19q-кодована; та гліобластома, IDH-дикий тип. У перших двох категоріях рівень пухлини може використовуватися для подальшого уточнення, але не для класифікації пухлини. Таким чином, класифікація гліобластоми з мутацією IDH була виключена та об'єднана в категорію астроцитому з мутацією IDH, яка включає астроцитому з мутацією IDH 2-4 ступеня. Крім того, процес класифікації пухлин тепер включає оцінку біомаркерів, а не тільки гістологічний аналіз. Крім того, ВООЗ відмовилася від використання римських цифр і тепер використовуватиме арабські цифри.

Фактично, CDKN2A/B. Крім того, розширилися критерії включення для діагностики ГБМ, IDH-дикого типу. Фактично, «гліобластома IDH-дикого типу має бути діагностована в умовах дифузної та астроцитарної гліоми IDH-дикого типу у дорослих, якщо є мікрovasкулярна проліферація або некроз, або мутація промотору TERT, або ампліфікація гена EGFR, або кількість копій хромосом +7 зміни» [54].

Важливим прогностичним фактором при ГБМ є наявність або відсутність метилювання промотора гена O 6 -метилгуанін-ДНК-метилтрансферази (MGMT). MGMT являє собою ген, розташований на хромосомі 10q26, який відповідає за видалення алкільних груп з положення O 6 гуаніну, що є загальною мішенню хіміотерапевтичних алкільуючих агентів [55]. Було показано, що ЗВ подовжується у пацієнтів з метилюванням промотора гена MGMT, які лікуються алкільуючими агентами темозоломідом (TMZ) або кармустином (BCNU) [55, 56]. Сучасні дослідження продемонстрували приблизно 6-місячне поліпшення ЗВ у пацієнтів з метилюванням MGMT, які отримували оптимальну терапію [6, 7, 55].

Гліобластома є найбільш поширеною первинною злоякісною пухлиною головного мозку у дорослих, з найбільшою летальністю [1, 2]. Медіана безрецидивної та загальної виживаності після вперше встановленого діагнозу становить 6,2-7,5 і 14,6-20,5 місяців відповідно. Навіть при сьогоdnішньому стандартному лікуванні, що включає максимально безпечну хірургічну резекцію, променеvu терапію та хіміотерапію виживаність хворих незадовільна [3, 4, 5, 6, 7, 8]. У світлі цього похмурого прогнозу було докладено значних зусиль для поліпшення загального виживання пацієнтів з гліобластою. Однак за останнє десятиліття всі доклінічні стратегії, які продемонстрували перспективні результати лікування гліобластоми, не показали покращення загального виживання у великих рандомізованих клінічних дослідженнях [4, 5, 6, 9, 10]. Основна причина цих невдач пов'язана з резистентністю пухлини до стандартних загально прийнятих варіантів лікування гліобластоми, які включають променеvu терапію із супутньою хіміотерапією. Зокрема, розкриття механізмів адаптивної радіорезистентності було серйозною проблемою. В надії знайти метод подолання

цієї невідкладної клінічної проблеми, дослідження були зосереджені на визначенні молекулярних механізмів адаптивної радіорезистентності при гліобластомі. У цьому огляді наведено короткий огляд історичних досягнень у діагностиці та лікуванні гліобластоми, а також результати доклінічних досліджень та клінічних випробувань радіосенсибілізаторів при лікуванні гліобластоми.

1.2. Варіанти лікування гліобластоми

Незважаючи на зростання доклінічних досліджень і клінічних випробувань в лікуванні гліобластоми, сучасні варіанти лікування не принесли значних успіхів у поліпшенні виживання пацієнтів. Лікування ГБМ особливо складне через первинне розташування, внутрішню гетерогенність та інфільтративний характер зростання цих пухлин. Стандартне лікування ГБМ включає хірургічну резекцію пухлини з подальшою променевою терапією із супутньою щоденною хіміотерапією темозоломідом (ТМЗ) з наступною додатковою терапією ТМЗ. Хірургічне лікування ГБМ спрямоване на максимальну хірургічну резекцію, тим самим покращуючи умови для додаткового лікування хіміо- та променевою терапією. Обсяг резекції хірургічним шляхом є важливим предиктором, пов'язаним з лікуванням, оскільки більш широке хірургічне видалення пов'язане з більшою тривалістю життя [48, 49, 50].

Хірургічне видалення пухлини з наступною променевою терапією та хіміотерапією ТМЗ залишається стандартом лікування гліобластоми з 2005 р. [61].

Не всі пацієнти однаково реагують на ці лікування. Висока генетична та молекулярна мінливість пухлин гліобластоми ускладнює прогнозування індивідуальної реакції на певні терапевтичні засоби. Таким чином, не дивно, що, незважаючи на всі ці варіанти лікування, медіана виживання пацієнтів з гліобластомою суттєво не покращала. Рецидив пухлини, який майже неминучий при медіані виживання 32-36 тижнів, ще більше ускладнює зусилля для лікування [68, 69, 70]. Лікування цих рецидивуючих пухлин є винятково складним завданням. Повторне опромінення та стереотаксична променева терапія використовувалися для лікування рецидивуючих пухлин гліобластоми [71, 72].

Проте ці та інші варіанти порятунку обмежені кумулятивною токсичністю [73]. До цього часу було проведено безліч клінічних випробувань з різними хіміотерапевтичними і недавно імунотерапевтичними препаратами, що вводяться у вигляді окремих агентів, або в комбінованій терапії для рецидивуючої гліобластоми [57, 74, 75, 76, 77, 78]. Проте, жодна з них не покращила виживання, диктуючи на невідкладності пошуку нових варіантів лікування ГБМ.

1.3. Поточний стан променевої терапії ГБМ. Радіорезистентність. Гіпоксія.

Хоча більшість пацієнтів з гліобластомою лікувалися за тими самими загальним протоколам протягом останнього десятиліття, променева терапія істотно змінилася за цей період, в результаті поліпшення оснащення і технологій візуалізації [79]. Ці зміни включають модернізацію технології променевої терапії з 2-мірної променевої терапії всього мозку на 3-вимірну конформну променеву терапію, а останнім часом - на променеву терапію з модульованою інтенсивністю (IMRT) та променеву терапію з об'ємною дугою (VMAT) [80, 81]. Методи IMRT обмежують вплив радіації на нормальні тканини, доставляючи пухлині оптимізоване випромінювання. Крім того, було запропоновано та використано фракціоноване стереотаксичне опромінення у кількох клінічних випробуваннях для пацієнтів з рецидивною ГБМ. Стереотаксичне наведення додатково підвищує точність доставки лікування до рентгенологічно ідентифікованої мітки. При фракціонуванні загальна доза опромінення ділиться на фракції і вводиться протягом декількох тижнів, що покращує радіобіологічну дію на пухлини в порівнянні з нормальними тканинами, які швидше відновлюють ушкодження. Підхід, відомий як гіпофракціонована променева терапія, дозволяє розділити загальну дозу опромінення на більші разові дози, тобто на меншу кількість фракцій, і проводити їх протягом більш короткого періоду часу, що може підвищити зручність [73, 81, 82, 83, 84]. Обмежена кількість досліджень, що поєднують розширене націлювання на ГБМ на основі зображень з ескалацією дози, передбачає невелику перевагу в результатах [85, 86, 87]. Таким чином,

незважаючи на значні досягнення в променевих технологіях, загальний результат променевої терапії при гліобластомі залишається далеким від оптимального, оскільки пухлини за своєю природою є гіпоксичними та розвивають підвищену резистентність до опромінення, особливо при рецидивах. Виходячи з цього, доцільно запропонувати більш ефективний сучасний метод лікування – стереотаксичну радіохірургію. СРХ здається привабливою альтернативою традиційній дистанційній променевій терапії через її мінімально інвазивний характер, крім того, її субміліметрова точність та крутий градієнт спаду дози здаються розумними для опромінення пухлини, в той час як призначення променевої терапії загрожує високим променевим навантаженням та токсичністю.

Протягом багатьох років багато досліджень було присвячено з'ясуванню механізму радіорезистентності ГБМ. Досі пояснення радіорезистентності ГБМ висвітлювали різні механізми. Всі ці раніше описані механізми виявили кілька ключових факторів, включаючи мікрооточення пухлини, гіпоксію, метаболічні зміни, стовбурові клітини гліоми, гетерогенність пухлини, мікроРНК, клітинний цикл, пошкодження та репарацію ДНК, які сприяють розвитку радіорезистентності ГБМ. Ці основні механізми радіорезистентності ГБМ детально обговорюватимуться у наступних підрозділах.

Мікрооточення пухлини ГБМ відіграє важливу роль в онкогенезі та прогресуванні ГБМ. Клітинний склад мікрооточення пухлини ГБМ включає непухлинні стромальні клітини, нормальні та реактивні астроцити, фібробласти, позаклітинні та судинні перицити, стовбурові клітини гліоми та імунні клітини [88, 89]. Мікрооточення пухлини також включає різні біомолекули, що продукуються всіма типами клітин в пухлині, для підтримки її росту та прогресування. Всі ці складні мережі різних клітин і біомолекул у мікрооточенні пухлини роблять свій внесок у відповідь на опромінення [90]. У кількох дослідженнях повідомлялося, що клітини гліоми, опромінені *in vivo* у моделях ксенотрансплантата, виявляють стійкість до опромінення, тоді як ті ж клітини, вирощені *in vitro*, виявляють чутливість до опромінення, що вказує на роль мікрооточення пухлини *in vivo* у розвитку радіорезистентності [91, 92].

Мікрооточення ГБМ анатомічно розділене на так звані пухлинні ніші, де сигнали, що виникають у стромальних та пухлинних клітинах, сходяться та регулюють прогресування та проліферацію пухлини [93, 94, 95]. Стовбурові клітини гліоми також знаходяться у цих нішах мікрооточення. Недавні дані свідчать про те, що ніші мікрооточення надають стовбуровим клітинам гліоми різні механізми для перешкоджання хіміо- та радіотерапії, таким чином розвиваючи резистентність [96]. Отже, мікрооточення пухлини відіграє важливу роль у розвитку радіорезистентності пухлини.

Гіпоксія поширена у солідних пухлинах, тому що швидке зростання пухлини випереджає зростання кровоносних судин, перешкоджаючи гомогенній дифузії кисню у всі області пухлини [97]. Пухлини ГБМ містять гіпоксичні області, виявлені за допомогою МРТ і мікроскопічного аналізу [98]. Було показано, що фактори, які індукують гіпоксію (HIF), роблять критичний внесок в онкогенез ГБМ, регулюючи туморогенну здатність стовбурових клітин гліоми [99]. Крім того, в середині минулого століття повідомлялося, що концентрація кисню впливає на реакцію клітин ссавців на радіацію [100]. Більшість пошкоджень ДНК, викликаних звичайною променевою терапією в нормоксичних умовах, опосередкована активними формами кисню, такими як O_2^- , H_2 Про 2 і ОН. Однак здатність променевої терапії викликати окислювальний стрес, що генерується вільними радикалами, знижується в умовах гіпоксії, тому не дивно, що гіпоксія призводить до розвитку радіорезистентності. Maranpon et al. повідомили, що регуляція функціональної взаємодії між позаклітинними сигнальними кіназами (ERK), ДНК-залежною каталітичною субодиницею протеїнкінази (DNA-PKcs) та HIF1- α , опосередкована гіпоксією, викликає радіорезистентність у ГБМ [101]. Було показано, що при активації гіпоксією HIF2- α активує OCT4 фактор транскрипції стовбурових клітин. Після активації OCT4 регулює самооновлення та диференціювання стовбурових клітин. Таким чином, гіпоксія може індукувати радіорезистентність за рахунок збільшення стовбурових популяцій клітин гліоми [102, 103, 104, 105]. Погано структурована мережа кровоносних судин також може призвести до нерегулярної та флюктуючої

перфузії пухлинної тканини. Ці коливання призводять до періодів поганої та кращої оксигенації, піддаючи клітини періодам гіпоксії, за якими слідують періоди реоксигенації циклічним чином [106]. Повідомлялося, що це явище, відоме як циклічна гіпоксія, викликає радіорезистентність ГБМ, спричиняючи суттєве збільшення активності HIF1- α [107]. Дослідники вивчають різні механізми мінімізації гіпоксії та зниження радіорезистентності при гліобластомі. Наприклад, повідомлялося, що поліпшення внутрішньопухлинної оксигенації підвищує радіочутливість гліоми *in vitro* та *in vivo*. Також досліджується відстеження та застосування зростаючих доз радіації в гіпоксичних ділянках [108, 109]. Проте необхідні додаткові дослідження, спрямовані на подолання гіпоксії ГБМ, щоб поліпшити чутливість пухлин на променеви терапію. Перспективою являється дослідження внутрішньопухлинної оксигенації в значному підвищенні радіочутливості пухлини.

Існує кілька механізмів, залучених до розвитку гіпоксії в пухлинах, включаючи доставку O_2 з обмеженням перфузії, доставку O_2 з обмеженням дифузії та анемічну гіпоксію. Різні механізми викликають суттєву неоднорідність рівнів оксигенації пухлинних тканин. 1) Кровоносні судини пухлини хаотичні та позбавлені фундаментальної архітектури кровоносних судин у нормальних тканинах. Обмежена перфузією доставка O_2 викликана серйозними структурними та функціональними аномаліями судинної мережі пухлини. Аномальні форми судин викликають геометричний опір, що порушує кровообіг. 2) Крім того, стінки судин у судинній мережі пухлини більш проникні, тому що в них недостатньо клітин гладкої мускулатури і часто є нерівномірне вистилання ендотеліальних клітин і базальна мембрана. 3) Ці структурні аномалії судинної мережі пухлини призводять до ішемічної гіпоксії. Цей тип гіпоксії також називають «гострою» гіпоксією. Дифузійно-обмежена доставка O_2 пов'язана з погіршенням дифузійної геометрії кровоносних судин. У нормальних тканинах кровоносні судини розташовані контрольованим і систематичним чином, тому відстань від клітин до капілярів підтримується встановленням постійного і однорідного градієнта кисню. У пухлинних тканинах далі від клітин можуть утворюватися кровоносні

судини, які позбавляють клітини кисню. Клітини на периферії знаходяться далі від кровопостачання і таким чином перебувають у стані гіпоксії. Ця обмежена дифузійною гіпоксія називається "хронічною" гіпоксією [1]. Анемічна гіпоксія може бути пов'язана з пухлиною або викликана терапією. Пухлини з низькою швидкістю перфузії особливо сприйнятливі до анемічної гіпоксії [4]. Нормальні тканини здатні компенсувати ішемію за рахунок збільшення кількості кисню, що надходить із крові, і можуть протидіяти анемії за рахунок збільшення швидкості місцевого кровотоку. Однак пухлини не здатні регулювати зниження рівня кисню, що призводить до розвитку гіпоксії. Гіпоксія є характерною ознакою солідних пухлин, що безпосередньо сприяють злоякісним властивостям раку [4 - 6]. У міру того, як у пухлинах розвиваються ділянки гіпоксії, вони повинні коригувати свій метаболізм, щоб адаптуватися до цього збідненого киснем мікросередовища. Пухлини акліматизуються за рахунок активації факторів, що індуються гіпоксією (HIF), які відіграють важливу роль у переході до анаеробного виробництва енергії. HIF, у свою чергу, активують експресію безлічі генів, пов'язаних з ангиогенезом, регуляцією метаболізму, балансом рН та клітинним апоптозом, що сприяє виживанню пухлини. Найважливіша роль HIF у захисті судин, відновленні кровопостачання пухлини та забезпеченні поживними речовинами ускладнює лікування солідних пухлин, що призводить до резистентності до променевої терапії, хіміотерапії та імунотерапії [110, 111].

Оскільки гіпоксія значно впливає на терапію раку, було розроблено низку методів для вимірювання та оцінки гіпоксії пухлини [112, 113]. До них відносяться інвазивні вимірювання, такі як аналіз кисню за допомогою полярографічних електродів і волоконно-оптичні зонди, імуногістохімічне виявлення препаратів, що екзогенно вводяться (наприклад, нітроїмідазол, EF5 і 2-нітроїмідазол), такі як позитронно-емісійна томографія (ПЕТ) з використанням маркерів гіпоксії (наприклад, 2-нітроїмідазол, 18 F-мічені індикатори (MISO, FMISO, EF5, FAZA та HX4), 11C-ацетат) та МРТ, зокрема, МРТ, яка залежить від рівня оксигенації крові (BOLD) [8, 9].

Прецизійна медицина для лікування раку, швидше за все, вимагатиме оцінки кількох біомаркерів з часом у одного пацієнта з індивідуалізованим лікуванням, заснованим на зміні характеристик пухлини та пацієнта. Для цього типу оцінки неінвазивні методи візуалізації пропонують важливу перевагу, визначаючи розташування гіпоксичних мікрорегіонів по всій пухлині. ПЕТ-візуалізація з використанням мічених 2-нітроімідазолом ^{18}F -міток може забезпечити просторове картування гіпоксії з часом. Однак успіх візуалізації залежить від успішної доставки трассера в неопластичну тканину [10, 11].

BOLD-MPT, також відома як MPT, зважена за внутрішньою сприйнятливістю, є неінвазивним методом MPT для непрямого вимірювання змін оксигенації в тканинах. У BOLD-MPT на контраст тканини впливають внутрішні властивості тканини (спін-решітчаста та спин-спинова релаксація), а також кровотік та парамагнітний дезоксигемоглобін в еритроцитах (на відміну від оксигемоглобіну, який не є парамагнітним).

Дезоксигемоглобін збільшує швидкість поперечної релаксації MP (R2^*), зворотну часу поперечної релаксації (T2^*), води в крові та навколишніх тканинах. Таким чином, BOLD-MPT чутливий до змін pO_2 в судинах і в тканинах, прилеглих до судин, що перфузуються [156]. Щоб відрізнити ефекти потоку від дезоксигемоглобіну та статичних компонентів тканини, T2^* швидкість релаксації ($\text{R2}^*=1/\text{T2}^*$) має бути вимірною. Це можна зробити за допомогою послідовності GRE з кількома ехо-сигналами, чутливими до змін властивостей локального магнітного поля. Відділення потоку від статичних ефектів на зображеннях R2^* відбувається тому, що компонент потоку можна розглядати як впливає на окремі зображення T2^* мультиградієнтної послідовності ехо. Хоча синтетичні зображення R2^* не впливають на кровотік, відображаючи в основному вміст дезоксигемоглобіну та статичні компоненти тканини, покращений кровотік та судинна функція також збільшують оксигенацію тканин, що можна побачити за змінами R2^* зображення.

Зображення BOLD-MPT з більшою ймовірністю відображають гостру (пов'язану з перфузією) гіпоксію тканин через тимчасову оклюзію дрібних

кровоносних судин, тоді як хронічна гіпоксія з меншою ймовірністю відображається BOLD-MPT через більшу відстань між еритроцитами у судинах та зоні гіпоксичної тканини. BOLD-MPT може надати точну інформацію про оксигенацію тканин тільки в тому випадку, якщо еритроцити доставляються в тканину, що цікавить. Дослідження людини та ксенотрансплантату показали, що перфузія пухлини сильно різниться, а доставка капілярної крові не просто пов'язана з відсутністю/наявністю судин [157]. Це спостереження може частково пояснити, чому немає прямих кореляцій між базовим рівнем $R2^*$ і pO^2 в тканинах. Статус оксигенації тканин можна точно інтерпретувати за зображеннями $R2^*$ тільки в тому випадку, якщо розподіл об'єму крові у тканині відомий або визначений експериментально. Таким чином, якщо тканина перфузована і має однорідну об'ємну фракцію крові, але має високий базовий рівень $R2^*$ в одній ділянці в порівнянні з іншою ділянкою тієї ж тканини, можна зробити висновок, що ділянка з високим $R2^*$ відносно більш гіпоксична; ця гіпотеза підтверджується останніми доклінічними та клінічними даними [158].

Автори відзначили відсутність значного збільшення сигналу BOLD як у гліомах низького, так і високого ступеня злоякісності, що пояснюється або вираженою гіпоксією всередині пухлини, неадекватністю або відсутністю викликаної гіперкапнією вазодилатації пухлинних судин, або тим і іншим. Зниження BOLD-сигналів, регульоване затримкою дихання, відбувалося тільки при гліомі високого ступеня злоякісності, що, швидше за все, пов'язане з викликаним гіперкапнією ефектом обкрадання, який перерозподіляє кровоток з ділянок пухлини з несприйнятливою новою судинною мережею до оточення. В іншому дослідженні розглядалася гетерогенність пухлини та реакція на вуглеводи у чотирьох пацієнтів з гліобластомою та у одного пацієнта з астроцитомою II ступеня [165].

Таким чином, переваги методу BOLD-MPT полягають у відсутності необхідності зовнішнього введення контрастних речовин або радіоактивних ізотопів, що легко відтворюється і близька до реального часу візуалізації змін, що

залежать від часу. BOLD-MPT чутливий до наявності зміни напруги кисню в судинах тканини, і залежність сигналу МР від потоку також може бути відділена.

Використання біомаркерів гіпоксії та оксигенації у програмі BOLD, доповнюється показниками дифузії, та коефіцієнтом дифузії (ADC), які також є важливими показниками ефективності радіохірургічного лікування гліобластоми.

MPT вимірює клітинну щільність через коефіцієнти дифузії (ADC) на дифузійно-зважених зображеннях, вимірюючи саму випадкову дифузію молекул води (броунівський рух) в біологічних тканинах [36]. Парадигма цитотоксичного лікування полягає в тому, що зниження ADC відображає деградацію клітинної цілісності в результаті некрозу або набряку [37, 38] і передбачає ефективність лікування [39]. Збільшення обсягу тканини з проміжним ADC передбачає ефективність [40], тоді як запальний набряк клітин і рекрутування макрофагів може знизити ADC [40]. Біомаркери візуалізації, отримані з ADC, характеризують початкову гіпоксичність клітин пухлини і показують, як змінюється їхня щільність під впливом радіохірургічного лікування, у тому числі з радіосенсибілізацією та з реоксигенацією. Також це стосується і фракційної анізотропії (FA), яка використовується в клінічних дослідженнях для оцінки життєздатності тканин та цілісності мозкових волокон [44]. Цікаво, що зміни фракційної анізотропії оцінюють ефективність лікування та можуть відбуватися вже через 1 день після початку цитотоксичної радіохіміотерапії [38]. FA відображає активність імунного мікрооточення. Це може бути використане у пацієнтів, які отримували СРХ, оскільки більш висока Т-клітинна інфільтрація поєднується з порушенням білої речовини та зниженням анізотропної дифузії [45].

Таким чином, використання неінвазивних МРТ методів BOLD та ADC (на основі ДЗЗ) дозволяє не тільки чітко визначати структурні біомаркери пухлинної тканини, у тому числі з визначенням ділянок гіпоксії, а також можливості оксигенації та реоксигенації в процесі лікування гліобластом за допомогою стереотаксичної радіохірургії з радіосенсибілізацією.

1.4. Радіосенсибілізатори при лікуванні гліобластоми

Променева терапія, як і раніше, є найбільш поширеним методом лікування багатьох типів пухлин. Близько 50% всіх хворих на рак отримують променеву терапію в ході лікування, що становить 40% усіх методів лікування раку [234, 235, 236]. Удосконалені технології та знання про методи променевої терапії збільшили використання променевої терапії. Тим не менш, існує ще широкий спектр перешкод та проблем, які вже обговорювалися у цьому розділі. Ці проблеми, такі як гетерогенність пухлини та метаболічні зміни, ускладнюють використання тільки променевої терапії для лікування пухлин не тільки при гліобластомі, а й для інших видів раку [237, 238, 239]. У зв'язку з цим використання радіосенсибілізаторів – це чудовий варіант для підвищення ефективності променевої терапії без збільшення дози опромінення, яка потім може завдати шкоди нормальним тканинам [240, 241, 242]. Радіосенсибілізатори підвищують чутливість пухлинних клітин до променевої терапії, змінюючи активність клітинних факторів, які модулюють шкідливий вплив радіації. Механізми радіосенсибілізації включають інгібування внутрішньоклітинних тіолів [243, 244], створення цитотоксичних речовин [245], інгібування репаративних біомолекул [246] та імітацію електрофільної активності кисню [247, 248]. Однак згодом використання радіосенсибілізаторів стало багатогранним підходом [249, 250]. Деякі добре зарекомендували себе хімотерапевтичні агенти, які використовувалися як радіосенсибілізатори.

Однією з основних причин радіорезистентності гліобластоми та інших солідних пухлин є наявність гіпоксичних ділянок усередині пухлини. Тому сполуки, що імітують кисень, були досліджені як потенційні радіосенсибілізатори при різних видах раку [258, 259, 260]. Зокрема, було описано, що сполуки, які містять нітрогрупу, що має таку ж спорідненість до електрона, як кисень, мають радіосенсибілізуючу дію [242, 261, 262, 263, 264]. Крім того, переносники кисню та речовини, які можуть виробляти кисень, такі як перекис водню, також були описані як потенційні радіосенсибілізатори [265, 266]. Однак недостатні та погано сформовані кровоносні судини в мікрооточенні пухлини ускладнюють

терапевтичне збільшення оксигенації пухлини [267]. Таким чином, альтернативний підхід зниження мітохондріального дихання був досліджений як метод збільшення оксигенації в гіпоксичних ділянках пухлини [268].

Мультиформна гліобластома є пухлинним утворенням, відомим своїм значним гіпоксичним розвитком. Крім того, пухлинна гіпоксія відіграє важливу роль у радіорезистентності, обмежуючи пошкодження, спричинене іонізуючим опроміненням, на основі зниження окисного стресу, а також обмеження O_2 -опосередкованої фіксації радіаційно-індукованого пошкодження ДНК. Деякі препарати спрямовані на оптимізацію перфузії та оксигенацію тканин під час променевої терапії, намагаючись подолати цю перешкоду.

Нітроїмідазоли. Найбільш ранній підхід, розглянутий у цій роботі, був опублікований в 1976 році: на основі перспективних доклінічних даних [4] Urtasun et al. рандомізували когорту з 31 пацієнта, які щодня отримували метронідазол протягом 18-денного курсу лікування [60]. В результаті статистично значущого кращого часу до прогресування пухлини, та загальної виживаності (медіана 26 тижнів порівняно з 15) у групі експериментального лікування. Автори пояснили ефект затримки повторного росту пухлини в результаті «вищої клітинної інактивації радіорезистентних гіпоксичних клітин» [5]. Доклінічні результати вже показали, що метронідазол є потужним радіосенсибілізатором, особливо в гіпоксичних клітинах, на основі подальшого окислення радіаційно-індукованих окислених уражень [4]. Наступні випробування були проведені з його потужнішим наступником мізонідазолом: у 1984 р. Fulton et al. продовжили попереднє дослідження, що поєднує цей нітроїмідазол другого покоління з гіперфракціонованою променевою терапією та променевою терапією зі звичайним фракціонуванням. Але в той час, як багаторазова щоденна фракційна променева терапія здавалася корисною, додавання радіосенсибілізатора не дало значного поліпшення [6]. Віденська дослідницька група повідомила про подібні результати того ж року, не продемонструвавши статистичної значущості поліпшення виживання [7]. Обидві дослідні групи описали мало виражених побічних ефектів під час початкового лікування, але після появи ознак накопичувальної

токсичності у формі периферичної невропатії [8]. Дослідження перейшли від використання мізонідазолу до етанідазолу третього покоління. У публікаціях Гарвардської медичної школи повідомляється про можливість його використання за допомогою безперервних інфузій під час брахітерапії [9], а також прискореної дистанційної променевої терапії при гліобластомі [10] і дитячій гліомі стовбура головного мозку [11]. Високі дози, як і раніше визначають максимально переносиму дозу. Продовження дослідження Chang et al. виявили, що лікування добре переноситься, але без поліпшення виживання порівняно з іншими концепціями лікування [12]. Згодом, після кількох випробувань без доказів користі щодо результату для пацієнтів, використання нітроїмідазолів в онкології змінилося. Оскільки їх спорідненість з гіпоксичними тканинами виявилася корисною в дослідженнях гліоми, похідні нітроїмідазолу досліджуються у формі функціональної ПЕТ-візуалізації для картування пухлинної гіпоксії з візуалізацією [F18]FETA або [F18]MISO [13].

Темозоломід. Як алкілюючий хіміотерапевтичний препарат темозоломід став стандартним засобом системної ад'ювантної терапії мультиформної гліобластоми на підставі дослідження Stupp et al. [2]. Шляхом метилювання радіаційно-індукованих ушкоджень, таких як дволанцюгові розриви, переважно на атомі Об аденіну, темозоломід може стабілізувати ушкодження, що призводить до підвищення ефективності променевої терапії одночасно із застосуванням TMZ [114]. На жаль, пухлини, що експресують Об-метилгуанін ДНК-метилтрансферазу (MGMT), демонструють підвищений потенціал відновлення цих уражень, що призводить до зниження ефективності терапії TMZ у пацієнтів з неметилюваним промотором MGMT [115], що призводить до гіршого прогнозу [116]. Наукові дослідження нині намагаються подолати ці обмеження, наприклад, за допомогою лікарського засобу для посилення алкілюючих ефектів у пухлинній тканині, що експресує MGMT [117].

Бевацизумаб. Мультиформна гліобластома — пухлинна форма з високим ступенем судинної проліферації, процес, що знижує ефективність терапії через неадекватну васкуляризацію, що призводить до гіпоксії пухлини та недостатнього

розподілу хіміотерапевтичних засобів [163, 164]. В якості моноклонального антитіла до фактору росту ендотелію судин бєвацизумаб є терапією, що кидає виклик цьому механізму за рахунок зниження ангиогенезу пухлини, тим самим збільшуючи належну перфузію і знижуючи гіпоксію і, отже, радіорезистентність [165]. Декілька випробувань фази II показали багатообіцяючі результати [166, 167], але недавні випробування фази III не виявили поліпшення виживання [168, 169, 170]. Отже, роль анти-VEGF-терапії в комбінованому лікуванні залишається неясною, і її використання, як і раніше, обмежується терапією другої лінії рецидивуючої гліоми з високою локальною варіабельністю щодо стану схвалення для цього показання [123, 171].

Загалом, хоча різноманітність методів та агентів, досліджених щодо радіосенсибілізуючої дії при терапії гліобластоми, велика, більшість речовин або не покращили виживання в порівнянні зі стандартним лікуванням, або не пройшли валідацію в дослідженнях фази III з великими когортами. Таким чином, комбінація променевої терапії з одночасним та ад'ювантним темозоломідом, запропонована Stupp et al. у 2005 р. (що призвело до медіани загального виживання 14,6 місяців у відповідному дослідженні) залишається стандартом лікування гліобластоми, і всі майбутні підходи до терапії порівнюватимуться з ним. Такі випробування як Yahara et al. [20] продемонстрували, що поточний стандарт ПТ + ТМЗ може бути підвищений ще більше, якщо режим доповнюється іншим методом радіосенсибілізації (в даному випадку гіпербаричною оксигенацією, що призводить до медіани ЗВ 22,1 місяця), але ж потрібен пошук нових методів радіосенсибілізації, у тому числі киснем, які достовірно будуть покращувати показники ЗВ і БВ, при мінімальній токсичності.

1.5. Генетичні маркери прогнозування ефективності лікування гліобластоми

На сьогоднішній час все більше уваги приділяється вивченню генетичних змін у клітині, що відбуваються під час її трансформації, їх впливу на структурні та функціональні особливості.

Мутації в генах ізоцитратдегідрогеназ 1 та 2 (IDH1 та IDH2) відіграють суттєву роль у гліомогенезі, а також визначають діагностику та вибір терапії пацієнтів [9, 10]. Функцією ізоцитратдегідрогеназ є окислювальне декарбоксілювання ізоцитрату, який перетворюється в α -кетоглутарат. Соматичні мутації в генах IDH1 та IDH2, які визначаються в гліомах та деяких інших пухлинах, являють собою гетерозиготні міссенс- мутації у каталітичному домені ферментів. Найбільш розповсюджені (> 90% випадків) мутації викликають заміну аргініну (R132) на гістидин в IDH1 та аргініну (R172) на лізин в IDH2 [10]. Мутації призводять до втрати нормальної функціональної активності ферментів (утворення α -кетоглутарату) та набувають нову функцію (утворення 2-гідроксиглутарату). Таким чином, мутації в генах IDH1 та IDH2 мають два наслідки для клітини. По-перше, знижується рівень нормального метаболіту α -кетоглутарату, який є ключовим проміжним продуктом циклу Кребса, необхідним для нормального його проходження та для багатьох інших процесів у клітині, таких як метаболізм жирів, ацетилювання білків та інші. Роль порушення цих процесів у канцерогенезі наразі мало вивчена. По-друге, у клітинах гліом накопичується 2-гідроксиглутарат, який розглядається як онкометаболіт [11]. В експериментах з культурами клітин було показано, що клітини, які містять мутантні IDH1/2 мають підвищену радіочутливість та чутливість до хіміопрепаратів, що, вірогідно, пов'язано з порушенням відповіді на окислювальний стрес [12, 13, 14]. Підвищення чутливості гліом з мутантними IDH1/2 до радіо- та хіміотерапії також було показано і в клінічних дослідженнях [15, 16]. Все вище перелічене говорить про необхідність систематичного визначення мутаційного статусу IDH1 /2 в клінічній практиці.

У зв'язку з тим, що мутації IDH1 /2 порушують метилювання ДНК в клітинах пухлин, були спроби визначити наявність кореляції метилювання промотора гена Об-метилгуанін-ДНК-метилтрансферази (MGMT, Об-methylguanine- DNA-methyltransferase) з наявністю мутації IDH1/2. Метилювання MGMT наразі розглядається як прогностичний маркер, що вказує на чутливість гліом до хіміотерапії алкілюючими агентами [17]. MGMT є одним із

ферментів системи репарації ДНК. Він видаляє метильні та хлоретильні групи з позиції Об- гуаніну, нейтралізуючи цитотоксичний ефект алкілюючих агентів [18]. В нормальних клітинах глії ген MGMT експресується на високому рівні. Зниження рівня експресії фермента, за рахунок метилювання промотора гена, яке спостерігається тільки в клітинах пухлин, збільшує цитотоксичність алкілюючих агентів вибірково по відношенню до клітин пухлин. Хоча важливість визначення мутацій IDH1/2 та метилювання MGMT загально визнана, залишається незрозумілим, вони надають незалежну інформацію як біомаркери, чи таку, що перекривається [19, 20].

PTEN (phosphatase and tensin homolog) – білок, що кодується геном PTEN, бере участь в регуляції клітинного циклу, є пухлинним супресором, функціонує як фосфатаза. Головна функція PTEN-пригнічення сигнального шляху, контрольованого фосфоінозитол-3-кіназою – одного з основних шляхів, відповідальних за проліферацію та виживання клітин. Мутації в гені PTEN призводять до розвитку пухлин, що виявляється в багатьох новоутвореннях. Білок, який кодується цим геном, є фосфатиділінозитол-3,4,5-трифосфат-3-фосфатазою, містить тензин-подібний домен (каталітична частка) і є білковою тирозиною фосфатазою. На відміну від інших білкових тирозинових фосфатаз, цей білок переважно дефосфорилує фосфоінозитидні субстрати, знижує внутрішньоклітинний рівень фосфатиділінозитол-3,4,5-трифосфату (PIP3), що в результаті пригнічує сигнальний шлях PI3K /Akt [21].

Білок PTEN містить фосфатазний домен і C2-домен: фосфатазний домен містить активний сайт зв'язування, який і здійснює ферментативну функцію білка, C2-домен здійснює прикріплення до фосфоліпідної мембрани. PTEN взаємодіє з мембрано-пов'язаним PIP3 та дефосфорилує його. PTEN є частиною сигнального шляху, який зупиняє ділення клітин та індукує апоптоз, що запобігає неконтрольованому росту клітин та прогресуванню онкологічного процесу.

При злоякісній трансформації в клітинах накопичуються мутації, які забезпечують прогресію пухлин. Мутації в гені білка PTEN призводять до втрати його ферментативної активності, що знижує контроль проліферації та апоптозу

клітин. Втрата PTEN найчастіше супроводжується активацією фосфоінозитол-3-кінази [21]. Генетична інактивація PTEN відзначається при гліобластомі, раку матки, раку простати, а зниження активності PTEN відзначається при раку легенів, раку молочної залози та ін.

Таким чином, є підстави вважати, що рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN, та експресії гену MGMT може мати прогностичне значення при лікуванні гліобластоми.

1.6. Передопераційна радіохірургія гліобластом

Використання передопераційної СРХ дає безліч переваг у порівнянні з післяопераційною. По-перше, передопераційна терапія дозволяє використовувати менші обсяги мішеней ПТ і точніше визначати їх межі, тим самим зменшуючи доставку дози до навколишніх здорових тканин та знижуючи ризик токсичності, пов'язаної з лікуванням (наприклад, радіаційного некрозу). По-друге, інтактні тканини мають вищі концентрації кисню, що дозволяє більш ефективно репарувати індуковані РТ дволанцюжкові розриви ДНК прямо, або опосередковано за рахунок дії активних форм кисню [98]. По-третє, післяопераційний аналіз тканин можливий при передопераційній терапії, що дозволить додатково охарактеризувати шляхи відновлення та зміни мікрооточення пухлини після СРХ. Це може дозволити більш індивідуалізовану стратегію лікування цих пацієнтів. Крім того, характеристика цих шляхів може надати можливість для майбутніх досліджень нових терапевтичних засобів, націлених на конкретні молекулярні мішені після передопераційної СРХ. По-четверте, ризик вузлової лептоменінгеальної хвороби у пацієнтів з метастазами в головний мозок виявляється нижчим, коли СРХ призначається до операції [42]. Ризик лептоменінгеальної хвороби у пацієнтів з гліобластомою становить приблизно 4% і часто є несприятливим розвитком для пацієнтів з гліобластомою [99, 100].

Передопераційна СРХ опромінює менший об'єм здорового мозку та вбиває менше лімфоцитів у порівнянні з післяопераційною СРТ.

Строки наступної хірургічної резекції також є важливим фактором, особливо для максимізації протипухлинного імунітету. Поки що є обмежені дані, які вивчають цей конкретний сценарій. Доклінічне дослідження De La Maza та ін. використовували мишачу модель мезотеліоми та лікування гіпофракціонованою променевою терапією [114]. Вони спостерігали, що тільки хірургічне втручання, або лікування хірургічним шляхом з наступною гіпофракціонованою променевою терапією через 1 день не призводило до відторгнення пухлини при повторній провокації через 90 днів. Однак, коли операцію було проведено через 7 днів після ПТ, повторна 90-денна провокація призвела до повного відторгнення пухлини у 33% випадків. Крім того, ця когорта мала найнижчі темпи росту пухлини загалом. Дослідники зауважили, що це було імунологічним відкриттям, оскільки виснаження CD4+ Т-клітин помітно зменшило ці результати. Це говорить про те, що довготривала імунологічна пам'ять щодо пухлини покращується, якщо оперативне втручання не слідує відразу за променевою терапією. У дослідженні NeoGlioma зазначено, що хірургічна резекція має проводитись протягом 14 днів після СРХ. Однак клінічні та матеріально-технічні обставини можуть зробити очікування в цей період нездійсненним.

Таким чином, гліобластома є руйнівним злоякісним новоутворенням із середньою загальною виживаністю близько 15 місяців, навіть при використанні оптимальної сучасної терапії. У той час, як випробування СРХ в ад'ювантній терапії були неоднозначними та суперечливими, її роль при опроміненні до оперативного втручання у поєднанні з сучасними системними агентами практично не вивчена. Доклінічні дані свідчать про те, що передопераційна СРХ може ще більше посилити імунну відповідь проти гліобластоми, що може бути використане для покращення загального виживання. Необхідні подальші дослідження, щоб краще визначити роль передопераційної СРХ у цій ситуації. В даний час проводяться додаткові доклінічні та ранні клінічні дослідження для подальшої оцінки цієї терапії, такі як дослідження NeoGlioma (NCT05030298), яке є клінічним випробуванням фази 1/2А, що оцінює роль передопераційної СРХ при гліомі високого ступеня злоякісності.

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ, МЕТОДІВ ОБСТЕЖЕННЯ, РАДІОХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ І СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ

2.1. Загальна характеристика хворих

З 2014 по 2021 рр. у відділенні радіонейрохірургії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» обстежено і проліковано 166 пацієнтів з гліобластомою (WHO Grade IV). Всі пацієнти були поділені на три когорти.

- I. 106 пацієнтів, у яких радіохірургія проведена з радіосенсибілізацією нітроімідазолами (метронідазол і німоразол) – 66 хворих – основна група, та 40 – контрольна, у яких СРХ проведена без радіосенсибілізації.
- II. 38 пацієнтів з рецидивною мультифокальною гліобластомою, яким було проведено радіохірургію з радіосенсибілізацією киснем.
- III. 22 особи з гліобластомою, яким була проведена передопераційна радіохірургія.

Всі пацієнти проходили лікування на лінійному прискорювачі “Linac” фірми BrainLab за допомогою методу радіохірургічного опромінення.

Критеріями відбору в лікувальні групи були:

- Пацієнти після проведення хірургічного втручання з субтотальною або тотальною резекцією пухлини, або с первинною ГБМ, яка підтверджена за даними біопсії;
- Морфологічна верифікація пухлини з діагнозом гліобластоми (WHO Grade IV);
- Первинні та рецидивні гліобластоми;
- Діапазон найбільшого діаметра пухлин від 0,5 до 6 см.
- Функціональний стан хворого не менше 60 балів за індексом Карновського.
- Підтверджена гіпоксія пухлини до радіохірургії за даними МРТ, з проведенням дифузійно-зважених програм, з отриманням вимірюваного

коефіцієнта дифузії (ADC). Виконання програми BOLD для отримання даних про ступінь оксигенації пухлини та реоксигенації після проведення радіосенсибілізації, та за даними "кисневої проби".

- Наявність інформованої добровільної письмової згоди пацієнта на проведення радіохірургічного лікування і участь в дослідженні.

Проводячи радіохірургічне лікування первинних гліобластом, ми враховували дані молекулярно-генетичної структури пухлини, для визначення метилювання з метою призначення темозоламідів, а також як предиктори нашого лікування.

Стереотаксичну радіохірургію проводили за одну чи декілька фракцій (3 - 5 фракцій) 166 хворим (середній вік хворих 55 років, інтервал 28 - 82), 96 чоловіків (57,83%), та 70 жінок (42,16%).

При однофракційній СРХ середня доза становила 18,4 Гр. При СРХ за 5 фракцій сумарна доза була 32,7 Гр (інтервал 25 - 40 Гр), середня доза за фракцію становила 6,55 Гр. При СРХ за 3 фракції, середня доза 7,73 Гр за фракцію, а сумарна - 23,2 Гр. В цілому доза за фракцію становила 7,14 Гр. Середній об'єм опромінених пухлин становив 29,21 см³, інтервал 3,3 - 140 см³. 66 пацієнтів були з первинними гліобlastомами, 40 хворих - з рецидивними. 38 пацієнтів були з мультифокальною рецидивною гліобlastомою, після радіосенсибілізації киснем. У досліджувальній групі з 22 пацієнтів, у яких проводили передопераційну радіохірургію, 12 хворих склали основну групу (СРХ передувала хірургії) та 10 хворих були в контрольній групі, в якій проводили тільки СРХ без хірургічної резекції.

Перед сеансом радіохірургії хворим обов'язково проводили дослідження оксигенації SpO₂ крові (кількість літрів за хвилину O₂), при необхідності піднімаючи вміст O₂ до 100%. За 2 години до СРХ хворі приймали перорально 2 г метронідазолу (СРХ+МТН), або 2 г німоразолу (СРХ+НМР), або проводили інфузію кисню («киснева проба» (СРХ+O²). Під час сеансу радіохірургії інфузія кисню здійснювалася під контролем датчика тиску, пульсу та рівня кисню у крові пацієнта.

МРТ зі стандартними протоколами, а також дифузійно-зважені зображення, та дифузійно-тензорні зображення, з отриманням коефіцієнта дифузії ADC та програму BOLD проводили до перфузії кисню, через 20 хвилин після перфузії кисню і потім ще раз після сеансу радіохірургії (через 40 хвилин). Тривалість сеансу перфузії кисню становила 20 хвилин з наступним проведенням сеансу радіохірургії.

Протягом першого тижня після СРХ проводили повторне МРТ з метою оцінки показників коефіцієнта дифузії (ADC) в зоні проміжної гіпоксії для визначення можливих предикторів на радіохірургічне лікування гліобластоми з використанням радіосенсибілізації. У більшості пацієнтів були пухлини IDH дикого типу (86%) та MGMT-метильовані (60%).

Рівень гемоглобіну в сироватці крові був досліджений перед СРХ у всіх пацієнтів. 30 пацієнтів (25,0%) з рівнем гемоглобіну ≤ 120 г/л і 90 пацієнтів (75,0%) з рівнем гемоглобіну ≥ 120 г/л. 88 хворих (83,02%) отримували супроводжуючий курс темозоломідом протягом радіохірургічного лікування (у дозуванні 75 мг/м²/день), та 70 пацієнтів (66,03%) отримували послідовну хіміотерапію з темозоломідом 150–200 мг/м² 5 днів на тиждень кожні 28 днів. Гліобластоми у наших спостереженнях були переважно монофокальні – 150 хворих (90,56%), мультифокальні були у 16 хворих (9,43%) (табл. 2.1).

Таблиця 2.1.

Характеристика хворих

Характеристика	Значення
Вік (роки):	
Медіана	55
Діапазон	28-82
Стать	
Чоловіки	96
Жінки	70
Індекс Карновського:	
Медіана	70
Загальний об'єм пухлин (см ³):	
Медіана	6,8
Діапазон	5,0-80,9
Призначена доза (Гр):	
Медіана (діапазон) СРХ за одну фракцію СРХ за 3-5 фракцій	18,4 (12-20) 32,7 (25-50)
Темозоломід (супроводжуючий курс) у дозуванні 75 мг/м ² /день.	88 (83,02%)
Темозоломід (послідовна хіміотерапія) 150–200 мг/м ²	70 (66,03%)
Монофокальні	150 (90,56%)
Мультифокальні	16 (9,43%)

Медіана індексу Карновського (ІК) становила 70 балів. При радіохірургічному лікуванні ми призначали дози, керуючись протоколом 90-05, рекомендованим Онкологічною Групою Радіаційної Терапії (RTOG). Більшість хворих в основній та контрольній групах були з первинними гліобlastомами (табл. 2.2).

Таблиця 2.2.

Розподіл пацієнтів в основній та контрольній групах n=166 (182 вогнища)

Розподіл хворих за групами	Основна група n=116	Контрольна група n=50
Гліобластоми первинні	70 (60,34)	36 (72,0)
Гліобластоми рецидивні	46 (39,65)	14 (28,0)
≤18,4 Гр n=37 (38,15)	27 (23,27)	10 (20,0)
≥18,4 Гр n=35 (61,84)	23 (19,82)	12 (24,0)
≤32,75 Гр n=24	16 (13,79)	8 (16,0)
≥32,75 Гр n=70	50 (43,10)	20 (40,0)

Примітка. 18,4 Гр - середня доза при однофракційній СРХ; 32,75 Гр – сумарна доза при СРХ за 5 фракцій.

Гліобластома розташовувалась частіше у тім'яній (24,09%), та лобній частках (21,08%), найрідше зустрічалася в задній черепній ямці, та в підкіркових структурах мозку (по 5,42%), та стовбурі мозку (4,81%) (табл. 2.3).

Таблиця 2.3.

Локалізація пухлин гліобластоми (n=166)

Локалізація	Абсолютне число (%)
Тім'яна частка	40 (24,09)
Лобова частка	35 (21,08)
Скронева частка	32 (19,27)
Потилична частка	28 (16,86)
Мозочок	9 (5,42)
Підкірка	9 (5,42)
Стовбур	8 (4,81)
Інша	5 (3,01)

Клінічними проявами найчастіше були: судомний синдром (33,73%), головний біль (22,89%), слабкість (19,27%), рухові порушення, та порушення чутливості (по 15,66%) (табл. 2.4).

Таблиця 2.4.

Клінічні симптоми гліобластоми n=166

Наявні симптоми:	Абсолютне число (%)
Судомний синдром	56 (33,73)
Головний біль	38 (22,89)
Слабкість	32 (19,27)
Рухові порушення	26 (15,66)
Порушення чутливості	26 (15,66)
Зорові порушення	19 (11,44)
Мовні порушення	16 (9,63)
Когнітивні розлади	14 (8,43)
Інші симптоми	5 (3,01)

Медіана спостереження склала 24 місяці з моменту СРХ.

2.2 Планування радіохірургічного лікування та діагностичний супровід

Планування радіохірургічного лікування здійснювалося поетапно:

I етап: Первинне діагностичне МРТ дослідження включало, крім стандартних послідовностей (T1WI, T2WI, FLAIR), дифузно-зважені зображення (DWI), у тому числі дифузно-тензорні зображення (DTI) з можливістю побудови дифузійних карт та отриманням коефіцієнта дифузії (ADC), а також T1WI+c (в радіохірургічному режимі із товщиною зрізу 1 мм). За необхідності оцінки ступеня васкуляризації пухлини проводилося перфузійне МСКТ дослідження. Дані МРТ вивчалися незалежними фахівцями: лікарем – рентгенологом та променевим терапевтом.

II етап: Наступний етап передбачав консультацію нейрохірурга та нейроофтальмолога. Остаточне показання до СРХ або СРТ формували мультидисциплінарний консилиум, у складі нейрохірурга, хіміотерапевта та лікаря-радіолога (променевого терапевта).

III етап: Наступним етапом дані необхідних МРТ послідовностей завантажувалися на робочу станцію «Iplan», променевим терапевтом визначалася точна локалізація пухлини та її співвідношення з критичними структурами головного мозку, розраховувався об'єм ділянки опромінення.

Наступним кроком виготовляється індивідуальна термопластична маска, яка фіксувалася на голові пацієнта і ретельно підганялася під контури обличчя та голови пацієнта.

Після фіксації стереотаксичної маски проводилося МСКТ-сканування.

IV етап: Імпортовані на робочу станцію «Iplan» МСКТ – зображення поєднували із зображеннями МРТ (fusion).

V етап: Далі проводилося контурування пухлини та критичних структур головного мозку (стовбур головного мозку, хіазма, зорові нерви та тракти, очні яблука, кришталики, гіпофіз).

В ході планування лікування відбувалося контурювання пухлини по даним T1WI+c, цей об'єм визначався як Gross Tumor Volume (GTV), далі співставлялися дані МРТ послідовностей T1WI+c та FLAIR і T2WI, що дозволяло визначити клінічний об'єм пухлини (CTV) - зони інфільтративного росту пухлини та перифокального набряку. Наступним етапом до об'єму мішені GTV та CTV додавався запланований об'єм пухлини (PTV), що становив 5 - 10 мм. Варто зазначити, що макроскопічний об'єм пухлини (GTV) міг збігатися з клінічним об'ємом пухлини (CTV). Далі відбувалося вимірювання об'єму патологічного вогнища пухлини.

В залежності від об'єму мішені опромінення пухлини, її локалізації, дози, яка припадала на критичні структури головного мозку призначався відповідний режим опромінення пухлини (кількість фракцій опромінення, разова доза

опромінення, сумарна доза опромінення або разова призначена доза опромінення при радіохірургічному лікуванні).

Доза опромінення та кількість фракцій розраховувалися з урахуванням: а) об'єму пухлини; б) показника α/β ; в) біологічної ефективної дози (BED); г) визначення дози на реально покриваємий об'єм пухлини (у відсотках); д) визначення дози на 100% об'єму мішені; е) визначення максимальної дози на осередок.

Розрахунки проводилися таким чином, щоб доза опромінення на критичні структури мозку була в межах їхньої толерантності, що дозволяло мінімізувати післяпроменевої реакції. Залежно від клінічної ситуації вибиралися такі методики опромінення: а) із 5 напрямків - при використанні методики Dyn Arc; б) з 8 - 12 напрямків - під час використання методики IMRT; в) комбіноване опромінення - Dyn Arc + IMRT.

VI етап: Затвердження остаточного плану лікування за участі променевого терапевта, медичного фізика та завідувача відділення радіонейрохірургії (формування кількості полів опромінення, напрямків, розрахунок дози, визначення методики).

VII етап: Точне позиціонування та репозиціонування.

VIII етап: Безпосередній етап опромінення на лінійному прискорювачі.

2.3 Діагностичний супровід після стереотаксичної радіохірургії

Подальше спостереження за пацієнтом здійснювалося через 1,5 місяця після опромінення за допомогою методу МРТ. Далі в залежності від картини МРТ обстеження призначалося кожні 3 або 6 місяців. При необхідності призначалося МСКТ обстеження.

Основним методом діагностики та подальшого спостереження після опромінення була магнітно-резонансна томографія. МРТ виконувалась на апараті «Intera» 1,5 Т. В процесі МРТ використані такі програми: T1WI в нативному зображенні, T1WI+c (з в/в контрастуванням в радіохірургічному режимі з товщиною зрізу 1 мм), FAST SE аксіальне T2WI; аксіальне T1WI; DWI; DTI;

FLAIR; коронарні T1WI + с. T2 FAST SE аксіальне T2WI виконано з наступними параметрами: TR / TE - 4000/120 мс; FOV 20 x 20 см; розмір матриці 256 x 256; товщина зрізу 5 мм. Аксіальні і коронарні T1WI + с зображення отримані після введення МКВ - 0,1 ммоль / кг маси тіла. МСКТ і МРТ дані піддані як кількісній, так і якісній оцінці. Кількісний аналіз даних МСКТ-ППГ заснований на значеннях відносного об'єму крові (rCBV) і відносної швидкості об'ємного кровотоку (rCBF) в пухлині (співвідношення з інтактною мозковою речовиною контралатеральної півкулі). Виміри проведені в 6 пікселях сірої і білої речовини контралатеральної півкулі і в патологічному осередку, виключаючи зони перитуморального набряку, некрозу і крововиливів. Значення rCBF в здоровій тканині мозку були розраховані по відношенню кровотоку білої і сірої речовини (WM / GM) і по відношенню кровотоку в тканині пухлини і у сірій речовині контралатеральної гемісфери мозку (GBM / GM).

Доза опромінення при МСКТ-перфузійному дослідженні складала 3,4 – 3,7 мЗв, доза опромінення при проведенні КТ головного мозку без внутрішньовенного контрастування – 2,0 мЗв.

За даним МРТ та МСКТ дослідження оцінювалися прогностичні фактори успішності променевого лікування.

Слід зазначити, що в якості дослідження можливого додаткового предиктора успішності лікування нами введено імунологічне дослідження в день або за день до початку проведення променевого лікування та через 1,5 місяці, 3 та 6 місяців після опромінення. Результати співставлялися з даними клінічного стану пацієнта та з МРТ і МСКТ картиною.

2.4. Стереотаксична радіохірургія гліобластом з радіосенсибілізацією

Для радіосенсибілізації були використані: метронідазол і німоразол, а також кисень.

Перед сеансом СРХ пацієнти отримували per os капсули метронідазолу, або таблетки німоразолу (з розрахунку 1,2 г/м² поверхні тіла). При використанні

кисню, його вводили за 30 хвилин до радіохірургії за допомогою оксигенатора "Оху 6000", зі ступенем насичення щонайменше 95%.

Сеанс СРХ здійснювався під контролем медичного фізика та променевого терапевта. Усі пучки опромінення доставлялися за одну фракцію з 6 - 10 некомпланарних динамічних дуг за допомогою 6-MV ЛП.

Відповідно до протоколу RTOG 90-05 використовувалися наступні призначені дози (ПД) по краю пухлини, залежно від об'єму пухлини:

- 24 Гр для вогнищ діаметром менше 20 мм
- 18 Гр для вогнищ з діаметром від 20 до 30 мм
- 15 Гр – для пухлин з діаметром від 31 до 50 мм.

Опромінення проводилося: з 5 напрямків при використанні методики Dyn Arc (40 пухлин – 21,5%); з 8 – 12 напрямків при використанні методики IMRT (60 пухлин – 32,2%); при комбінованому використанні Dyn Arc+IMRT (86 пухлин - 46,23%).

Більш детальну інформацію про фракціонування дози наведено у розділах III та IV.

Після закінчення сеансу лікування пацієнту вводили 4-8 мг дексаметазону і відправляли до клініки (для стаціонарних хворих), або в кімнату очікування (для амбулаторних хворих).

Підготовка документації для пацієнта (протокол радіохірургічної операції та виписний епікриз) завірявся підписом завідувача відділення, з яким погоджували і дату першого контрольного МРТ-дослідження.

2.5. Молекулярно-генетичні та імунологічні дослідження

Дослідження проводилось у Державній установі «Інститут нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова НАМН України» (акредитаційний сертифікат від 08.08.2019 р. за №014530, серією МЗ Міністерства охорони здоров'я України) у відділі нейробіохімії (Сертифікат визначення вимірювальних можливостей № ПТ-322 /21 від 28.07.2021 р. до 27.07.2023 р.), який засвідчує, що відділ атестований на підставі Закону України “Про метрологію та метрологічну діяльність”, відповідає

критеріям атестації вимірювальних лабораторій відповідно до Правил уповноваження та атестації в державній метрологічній системі. Відділ атестовано на проведення вимірювань показників об'єктів згідно з галуззю, що наведена в додатку до свідоцтва про атестацію і є невід'ємною його складовою частиною.

Клінічне обстеження хворих та гістологічний діагноз встановлювали у відділі патоморфології згідно WHO-класифікації пухлин центральної нервової системи.

Всі пацієнти, що увійшли в дослідження, перебували на лікуванні в ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України”.

На проведення роботи було отримано дозвіл комісії з біоетики ДУ «Інститут нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова НАМН України». Кожний пацієнт та особа популяційного контролю давали згоду на участь у дослідженні.

В дослідження включені пацієнти з різними за нозологією пухлинами мозку. Обстежено та оперовано з отриманням пухлинного матеріалу для подальших досліджень 12 пацієнтів. Молекулярно-генетичні дослідження проведено в 12 випадках на матеріалі, що був отриманий за цей період в усіх випадках відомий катамнез. Об'єктом дослідження була тканина пухлини головного мозку пацієнтів.

Дослідження проводили у двох групах пацієнтів. Перша група була досліджуваною. Пацієнти цієї групи лікувались із застосуванням передопераційного стереотаксичного опромінення. Друга група слугувала контролем. В ній пацієнти при лікуванні не отримували передопераційного стереотаксичного опромінення.

Матеріал для дослідження отримували з фрагментів тканини пухлин головного мозку, вилученої під час хірургічного втручання. Фрагменти тканин пухлин одразу після вилучення були розміщені у стерильні кріопробірки та заморожені у рідкому азоті, де зберігалися при температурі – 196°C до моменту використання у експерименті.

В роботі використовували набір Tag Man Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) та Tag Man SNP Genotyping Assays для визначення

поліморфізмів (Applied Biosystems, США). ПЛР в реальному часі проводили на системі проведення ПЛР з флуоресцентною детекцією у реальному часі CFX96 (BioRad, США).

На всіх етапах роботи використовували автоматичні дозатори зі змінними об'ємами. Все обладнання було атестовано та пройшло перевірку законодавчо регульованого засобів вимірювальної техніки.

Геномна ДНК була ізольована за допомогою комерційно-доступного набору реагентів для екстракції ДНК/РНК з біологічного матеріалу «DNA/RNA-Mag» (ТОВ «ХЕМА», Україна) відповідно до протоколу.

Визначення поліморфізму гену IDH1 за допомогою ПЛР у реальному часі

Референсна послідовність для визначення поліморфізму гену IDH1:

rs13121913500 acttacttgatccccataagcatga[c/t]gacstatgatgataggttttaaccса. Алель дикого типу G визначали зондом із барвником VIC; мінорний алель А визначали зондом із барвником FAM.

Виділення сумарної РНК

Сумарна РНК була виділена із заморожених у рідкому азоті зразків тканин за допомогою комерційно доступного набору PureLink RNA Mini Kit (Applied Biosystems, США) відповідно інструкції до набору. Етапи виділення складались із лізису клітин, зв'язування РНК із мембраною, очищення РНК та елюції. Виділену РНК розміщували на льоду, перевіряли на якість та одразу використовували для синтезу кДНК у реакції зворотної транскрипції.

Синтез першого ланцюга кДНК

кДНК була отримана шляхом реакції зворотної транскрипції за допомогою набору Tag man reverse transcription reagents (Applied Biosystems, США) відповідно інструкції до набору. Реакція проводилася в об'ємі 20 мкл. У якості затравки були використані oligodT праймери.

Визначення рівня експресії генів за допомогою ПЛР у реальному часі

Рівень експресії генів MGMT (Hs01037698_m1) та PTEN (Hs02621230_s1), був проаналізований на системі проведення ПЛР з флуоресцентною детекцією у реальному часі CFX96 Touch (BioRad, США) з використанням наборів Tag Man

Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) та Tag Man Gene Expression Assays (Applied Biosystems, США) за наступним протоколом:

Первинна денатурація 95°C – 10 хвилин (1 цикл).

Ампліфікаційний цикл (x 40)

– денатурація 95°C – 15 сек,

– відпалення праймерів, елонгація та фіксування флуоресцентного сигналу 60°C – 1 хвилина.

Накопичення продуктів ампліфікації визначали за допомогою олігонуклеотидних проб типу Tag Man (зондів), комплементарних центральній частині фрагменту транскрипту, що ампліфікувався. До 5' кінця зонду приєднаний флюорофор FAM, а 3' кінець несе гасник MGB. При ампліфікації транскрипту відбувається роз'єднання флюорофора та гасника і прилад фіксує флуоресцентний сигнал. Послідовності олігонуклеотидних проб, які були використані для визначення експресії досліджуваних генів (табл. 2.5).

Для перевірки відсутності ампліфікації ділянок транскриптів досліджуваних генів на можливих домішках геномної ДНК у зразку попередньо проводили паралельні реакції ампліфікації зразка РНК без проведення зворотної транскрипції та кДНК.

Таблиця 2.5.

Нуклеотидна послідовність флуоресцентних зондів використаних для визначення рівня експресії генів

Ген	Послідовність олігонуклеотидної проби
MGMT	5'gcaancngnccccacctcatccc 3'
PTEN	5'atgctgcacagaaattttcaatttg3'
GUSB	5'gctactactgaagatggtgatcgc3'

В якості референтного гена було обрано ген глюкуронідази GUSB (Hs00939627_m1), що належить до групи “housekeeping gene”, для них характерний стабільний рівень експресії серед різних зразків. Припускають, що зміна кількості його кДНК, залежить лише від впливу додаткових факторів, що

визначають кінетику зворотної транскрипції. Це дозволяє порівнювати рівень експресії генів між різними зразками.

Аналіз даних проводили за пороговою флуоресценцією, що є основним критерієм оцінки отриманих результатів.

Абсолютну кількість копій мРНК генів MGMT та PTEN у зразках метастазу головного мозку визначали з використанням ампліфікації десятикратних розведень фрагменту гену MGMT заключеного у плазмиду та побудови на основі цих даних стандартної кривої. Для цього використовували систему GeneArt Gene Synthesis (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Germany). Для обчислення використовували рівняння кривої $y = -0,3415x + 13,275$. Різницю рівня експресії генів між зразками оцінювали за нормованою кількістю копій мРНК генів MGMT та PTEN відносно кількості копій гену домашнього господарства GUSB.

На всіх етапах роботи використовували дозатори піпеткові з регульованим об'ємом дози. Все використане обладнання пройшло перевірку законодавчо регульованого засобу вимірювальної техніки та має відповідне свідоцтво.

Оцінка стану імунної системи у хворих на пухлини мозку проводилась з урахуванням клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланки імунітету.

При визначенні клітинного імунітету, було підраховано відносну та абсолютну кількість основних субпопуляцій лімфоцитів, таких як CD-3 – загальні Т лімфоцити, CD-4 – Т лімфоцити – хелпери, CD-8 – цитотоксичні лімфоцити, CD-16 – натуральні кілерні лімфоцити, CD-19 В лімфоцити. Визначення концентрації цих субпопуляцій проводилось за допомогою відповідних моноклональних антитіл фірми Becton Dickinson USA, за рекомендованими інструкціями та протоколами досліджень, адаптованих до визначення цих клітин в периферичній крові (Пінегін).

Визначення рівня сироваткових імуноглобулінів класу IgM, IgA проводилось за допомогою стандартних наборів моноспецифічних сироваток фірми «Мікроген» МЗ РФ в агарних пластинах, згідно рекомендацій та інструкцій виробника.

Фагоцитарну активність лейкоцитів та нейтрофілів визначали за допомогою НСТ тесту в колометричній модифікації по методу Гордієнко С.Н.

Мієлопероксидазну активність нейтрофілів проводили колометричним методом по активності внутрішньоклітинної пероксидази в порівнянні з пероксидазою хрину по методиці, адаптивній до ІФА аналізатора-рідера.

2.6. Методи статистичного аналізу

Кожному пацієнту присвоювався порядковий номер, відповідно з яким він заносився в комп'ютерну базу даних Excel для наступного аналізу.

Катамнестичний метод набору респондентів протягом трьохрічного (для основної групи) і п'ятирічного (для контрольної групи) періоду дозволив набрати статистично значиму групу пацієнтів для:

1. Достовірного розрахунку показників чутливості, специфічності і точності методів МРТ (включаючи стандартні і додаткові послідовності);
2. Моніторингу ранньої відповіді після СРХ;
3. Диференціальної діагностики радіонекрозу та рецидиву гліобластоми;
4. Показників локального контролю росту пухлини та виживаності після СРХ.

Для кількісних характеристик групи використовували медіану з відповідним довірчим інтервалом - показник центральної тенденції, який є більш стійким до можливого розсіювання даних і дозволяє прийняти відповідну гіпотезу H_0 при нормальному розподілі даних вибірки. Розрахунок медіан здійснено бутстреп - методом.

За допомогою програмного забезпечення IBM SPSS Ver.21 для розрахунків генерувалась 1000 вибірок. Оскільки аналізували процеси, що проходять у часі, досліджували розподіл часу щодо випадків (безрецидивного і загального виживання). Для застосування відповідних тестів перевірена гіпотеза H_0 в логнормальному розподілі часу і рівності дисперсій урівноважених часових вибірок.

Показники загальної виживаності і безрецидивного періоду нормального розподілу в основній групі, у відмінності від контрольної групи, були відхилені і прийняті показники логнормального розподілу.

Виходячи з чисельності групи був обраний точний критерій Фішера для перевірки нульової гіпотези за відсутності статистичної відмінності між групами по частотам відповідних показників з рівнем статистичної значимості 0,05.

В подальшому, в залежності від отриманих висновків, використовувалися або параметричні, або непараметричні методи порівняння. Для перевірки однорідності груп по непараметричним методам застосовувався критерій Манна-Уїтні, за яким перевірялася гіпотеза щодо середніх рангів, а також Вальда-Вольфовица і Колмогорова-Смірнова - гіпотеза співпадіння вибірки з однієї генеральної совокупності.

Як показники перевірялася гіпотеза щодо нормального розподілу, розглядалися: вік пацієнтів і об'єм кожної пухлини для кожного пацієнта. При p -level 0,0003 і 0,0003 H_0 відхилялася, а приймалася альтернативна непараметрична гіпотеза H_1 при присутності відмінності.

Додатково використані критерії Манна-Уїтні, які показали допустимість застосування параметричних методів порівняння (p -level 0,400 і 0,433, відповідно) (табл. 2.6.1 - 2.6.7.).

Дані, наведені у таблицях, підтвердили отримані результати за тестами Манна-Уїтні в залежності від стадійності захворювання ($p < 0,025$).

Показник варіації розміру пухлини показав, наскільки різняться розміри окремих пухлин в одного пацієнта. Він був розрахований, як відношення середнього квадратичного відхилення розмірів пухлин одного пацієнта до середнього арифметичного розміру пухлини цього ж пацієнта. Варіювання вважалось слабким, якщо становило $< 10\%$, середнім, якщо становило 11 - 25% і значним, якщо становило 25%.

Таблиця 2.6.1.

Nonparametric Tests

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of e_час_від_операції_до_PX is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,051	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of f_загальна_доза is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,997	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of i_доза_max is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,939	Retain the null hypothesis.
4	The distribution of k_об'єм_до_PX is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,006	Reject the null hypothesis.
5	The distribution of l_загальна_доза_на_об'єм_до_PX is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,003	Reject the null hypothesis.
6	The distribution of v_безрецидивний_період_м is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.
7	The distribution of w_загальна_виживаність_м is the same across categories of a_основна_група_так_1.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000	Reject the null hypothesis.

/INDEPENDENT TEST (e_час_від_операції_до_PX f_загальна_доза i_доза_max k_об'єм_до_PX l_загальна_доза_на_об'єм_до_PX v_безрецидивний_період_м w_загальна_виживаність_м) GROUP (a_основна_група_так_1) MANN_WHITNEY /MISSING SCOPE=ANALYSIS USERMISSING=EXCLUDE /CRITERIA ALPHA=0.05 CILEVEL=95

Таблиця 2.6.2.

**Independent-Samples Mann-Whitney U Test
Summary**

Total N	106
Mann-Whitney U	1643,000
Wilcoxon W	3239,000
Test Statistic	1643,000
Standard Error	138,735
Standardized Test Statistic	1,953
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,051

e: _час_від_операції_до_PX across a: _основна_група,_так_(1)

Таблиця 2.6.3.

**Independent-Samples Mann-Whitney U Test
Summary**

Total N	106
Mann-Whitney U	1372,500
Wilcoxon W	2968,500
Test Statistic	1372,500
Standard Error	155,152
Standardized Test Statistic	,003
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,997

f: _загальна_доза across a: _основна_група,_так_(1)

Таблиця 2.6.4.

**Independent-Samples Mann-Whitney U
Test Summary**

Total N	106
Mann-Whitney U	1360,000
Wilcoxon W	2956,000
Test Statistic	1360,000
Standard Error	155,675
Standardized Test Statistic	-,077
Asymptotic Sig.(2- sided test)	,939

i: _доза_max across a: _основна_група,_так_(1)

Таблиця 2.6.5.

**Independent-Samples Mann-Whitney U
Test Summary**

Total N	106
Mann-Whitney U	942,000
Wilcoxon W	2538,000
Test Statistic	942,000
Standard Error	155,681
Standardized Test Statistic	-2,762
Asymptotic Sig.(2- sided test)	,006

k: _об'єм_до_PX* across a: _основна_група,_так_(1)

Таблиця 2.6.6.

**Independent-Samples Mann-Whitney U
Test Summary**

Total N	106
Mann-Whitney U	1834,000
Wilcoxon W	3430,000
Test Statistic	1834,000
Standard Error	155,687
Standardized Test Statistic	2,967
Asymptotic Sig.(2- sided test)	,003

l: загальна доза на об'єм до PX across a: основна група, так (1)

Таблиця 2.6.7.

**Independent-Samples Mann-Whitney U
Test Summary**

Total N	106
Mann-Whitney U	2238,000
Wilcoxon W	3834,000
Test Statistic	2238,000
Standard Error	155,148
Standardized Test Statistic	5,582
Asymptotic Sig.(2- sided test)	,000

v: безрецидивний період (м.) across a: основна група, так (1)

Показники діагностичної інформативності методу дослідження (ознака), точність (Т), чутливість (Ч), специфічність (С) визначалися за відомими формулами 1 - 3:

$$Ч=П/П+ХН; (1)$$

$$С=ІН/ІН+ХП; (2)$$

$$Т=П+ІН/П+ІН+ХП+ХН. (3)$$

де: П – істинно позитивні результати;

ХП – хибно позитивні результати;

ХН – хибно негативні результати;

ІН – істинно негативні результати.

Таким чином, застосування цих методів статистичної обробки дозволило отримати статистично достовірні результати.

Матеріали розділу висвітлені в публікаціях

1. Грязов А.Б., Главацкий А.Я., Земскова О.В., Грязов А.А. Радиохирургическое лечение злокачественных опухолей головного мозга с применением радиосенсибилизаторов. Евразийский Союз Ученых.–2017.– №2.–С.42–50.
2. Gryazov A.B. Hypofractionated Radiosurgery in glioblastom /A.B. Gryazov, A.A. Gryazov. Sciences of Europe. – 2018.– №34-1. – С. 16-24.
3. Грязов А.А., Грязов А.Б. Сопоставление динамически чувствительной магнитно-резонансной томографической перфузии и неинвазивной артериальной спинмаркировки в диагностике степени злокачественности глиом. Український Радіологічний журнал. 2018; 26(2): 74-79.
4. Грязов А.Б. Сучасні методи візуалізації у визначенні ефективності стереотаксичної радіохірургії в лікуванні хворих з гліобластомами/ Грязов А.Б., Грязов А.А. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Перспективи розвитку медицини в країнах ЄС та в Україні", Влоцлавек, Республіка Польща. 21–22 грудня 2018 р. С. 21.
5. Грязов А.Б. Діагностичний супровід планування радіохірургічного лікування порожнини злоякісних гліом після хірургічної резекції./Грязов А.Б, Макеев С.С., Грязов А.А. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в

- підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих». Київ. Україна. 23–25 жовтня 2019. С. 77.
6. Грязов А.Б. Новый подход к радиохирургическому лечению опухолей головного мозга с использованием комплексных данных функциональной МРТ и диффузно-тензорной трактографии./Грязов А.Б., Чувашова О.Ю., Колесник С.П., Грязов А.А. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих». Київ. Україна. 23–25 жовтня 2019. С. 75.
 7. Грязов А.Б. Показники вимірюваного коефіцієнта дифузії та швидкості і об'єму мозкового кровотоку у диференціальній діагностиці постпроменевиx змін та рецидиву пухлини після радіохірургічного лікування гліобластом/ Грязов А.Б., Грязов А.А.//Annual Conference of the Ukrainian Association of Neurosurgeons “The Ways to Improve the Functional Results of Treatment in Neurosurgery” (Polyanytsya village, March 13-15, 2019) Bukovel, Ukraine. С. 24-25.
 8. Главацький О.Я. Радіохірургічне лікування рецидивів гліобластом із застосуванням комбінації антиангіогенного та цитостатичного засобів / О.Я. Главацький, О.В. Земскова, А.А. Грязов, А.Б. Грязов, І.Г. Васил'єва, І.М. Шуба. Матеріали Науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю “Організація та сучасні принципи надання спеціалізованої нейрохірургічної допомоги хворим на мозковий інсульт”, Вінниця. 5— 7 вересня 2018 р.
 9. Главацький О. Комбінована терапія рецидиву гліобластом радіохірургічно з наступним використанням антиангіогенних та цитостатичних препаратів / О. Главацький, О. Земскова, І. Шуба, А.А. Грязов, Г. Хмельницький, А.Б. Грязов // Матеріали II Науково-практичної конференції з міжнародною участю “Пухлини центральної нервової системи. Мультидисциплінарний підхід”, Харків. 18— 20 жовтня 2018 р. С. 20.

РОЗДІЛ 3.

ДІАГНОСТИЧНИЙ СУПРОВІД РАДІОХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ГЛІОБЛАСТОМИ З ВИКОРИСТАННЯМ РАДІОСЕНСИБІЛІЗАТОРІВ

3.1. Діагностичні показники клітинної гіпоксії за даними МРТ та проби з киснем. Закономірність змін вимірюваного коефіцієнта дифузії при радіохірургічному лікуванні гліобластоми з використанням радіосенсибілізації

Кровотік у головному мозку суворо контролюється локально у відповідь на напругу кисню та вуглекислого газу в кортикальній тканині. Коли певна ділянка кори збільшує свою активність у відповідь на завдання, екстракція фракції кисню з локальних капілярів призводить до початкового падіння оксигенованого гемоглобіну (о_{ху}Н_б) та збільшення місцевого вуглекислого газу (СО₂) та деоксигенованого гемоглобіну (deо_{ху}Н_б). Після затримки у 2-6 секунд, мозковий кровотік (CBF) збільшується, доставляючи надлишок насиченого киснем гемоглобіну, вимиваючи дезоксигемоглобін. Саме цей великий відсоток місцевої оксигенації тканин і візуалізується.

Причина, за якою МРТ BOLD здатна виявити цю зміну, пов'язана з фундаментальною різницею в парамагнітних властивостях о_{ху}Н_б та deо_{ху}Н_б.

Дезоксигенований гемоглобін є парамагнітним, тоді як оксигенований гемоглобін - ні, і, отже, перший викликає локальне дефазування протонів і, таким чином, зменшує зворотний сигнал від тканин у безпосередній близькості. Для виявлення цієї зміни використовуються сильно зважені T2* послідовності, які становлять порядку 1-5%, а також програма BOLD.

Дослідження рівня оксигенації за даними програми BOLD та визначення показників пухлинної гіпоксії стали основними для нашої роботи з використання радіомодифікації при лікуванні гліобластоми.

Доступні стратегії для оцінки гіпоксії використовують екзогенні сполуки, такі як нітроїмідазоли (метронідазол, німоразол), які зв'язуються з макромолекулами в клітинах в умовах гіпоксії. Нітроїмідазоли проникають у

життєздатні клітини шляхом пасивної дифузії, де вони зазнають активного відновлення. У нормоксичних умовах ці молекули повторно окислюються і дифундують із клітини. Навпаки, при тяжкій гіпоксії вони зрештою незворотно захоплюються в клітину при порозі $p_t O_2 < 10$ мм рт.ст.

На етапі діагностики ми зіставляли дані програми BOLD, нативні та постконтрастні МРТ T133, до та після проведення "кисневої проби", а також дані дифузно-зважених зображень, особливо нас цікавив показник вимірюваного коефіцієнта дифузії (ADC).

Надалі, на етапі радіохірургічного лікування гліобластоми, для радіосенсибілізації (РС), ми вже використовували сам кисень, або препарати з групи нітроїмідазолів, що мають значний киснеподібний ефект.

З метою перевірки гіпотези про прогностичне значення вимірюваного коефіцієнта дифузії проведено ретроспективний аналіз 20 спостережень після СРХ, де виявлено прогресування захворювання (4 випадки, група 3), стабілізація процесу (4 випадки, група 2) та регрес пухлини (12 випадків). Показники ADC у зоні проміжної гіпоксії (показники від 0,7 до $0,9 \pm 0,00$) до і через 3 години після прийому РС (табл. 3.1).

За даними змін показників ADC в ділянці проміжної гіпоксії гліобластоми до та після прийому РС, незалежно від об'єму пухлини, виявилось можливим припустити результат радіохірургічного лікування (рис. 3.1, табл. 3.1). Так, відсутність змін показників ADC є предиктором прогресування захворювання (група 3); пацієнти з підвищенням ADC у середньому на $0,1 \pm 0,04 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ склали групу з ймовірним стабільним станом пухлини (2 група); хворі із підвищенням ADC на $0,8 \pm 0,02 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ – склали групу ймовірної ремісії вогнища (1 група), $p < 0,05$.

Таблиця 3.1.

ADC в зоні проміжної гіпоксії ГБМ до і після проведення радіосенсибілізації

Пацієнт вік/стать	Пухлина	Об'єм пухлини (см ³)	Початковий ADC x10 ⁻³ мм ² /с	ADC (x10 ⁻³ мм ² /с) через 3 години після прийому РС	Група відпові ді
52/ч	ГБМ	16,2	0,7±0,15	0,8±0,12	1
58/ч	ГБМ	10,8	0,7±0,13	0,8±0,18	1
71/ч	ГБМ	12,7	0,8±0,08	0,9±0,12	1
42/ж	ГБМ	5,8	0,8±0,02	0,9±0,08	1
59/ч	ГБМ	3,3	0,7±0,09	0,8±0,11	1
64/ч	ГБМ	13,0	0,8±0,01	0,9±0,18	1
49/ж	ГБМ	10,2	0,9±0,05	1,0±0,15	1
73/ч	ГБМ	7,5	0,9±0,12	1,0±1,13	1
69/ж	ГБМ	19,5	0,9±0,11	1,0±1,17	1
62/ж	ГБМ	8,8	0,7±0,11	0,8±0,06	1
76/ч	ГБМ	7,27	0,7±0,06	0,9±0,01	1
58/ч	ГБМ	7,43	0,9±0,01	1,0±0,03	1
66/ч	ГБМ	9,2	0,8±0,02	0,8±0,44	2
53/ж	ГБМ	6,4	0,8±0,11	0,8±0,49	2
64/ч	ГБМ	18,3	0,8±0,04	0,9±0,16	2
47/ч	ГБМ	8,6	0,7±0,01	0,7±1,9	2
50/ж	ГБМ	17,3	0,6±0,12	0,6±0,14	3
63/ч	ГБМ	15,9	0,7±0,01	0,7±0,03	3
55/ж	ГБМ	20,9	0,7±0,06	0,7±0,04	3
60/ч	ГБМ	30,2	0,8±0,11	0,8±0,13	3

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками в групах складає (P <0,05, x² test).

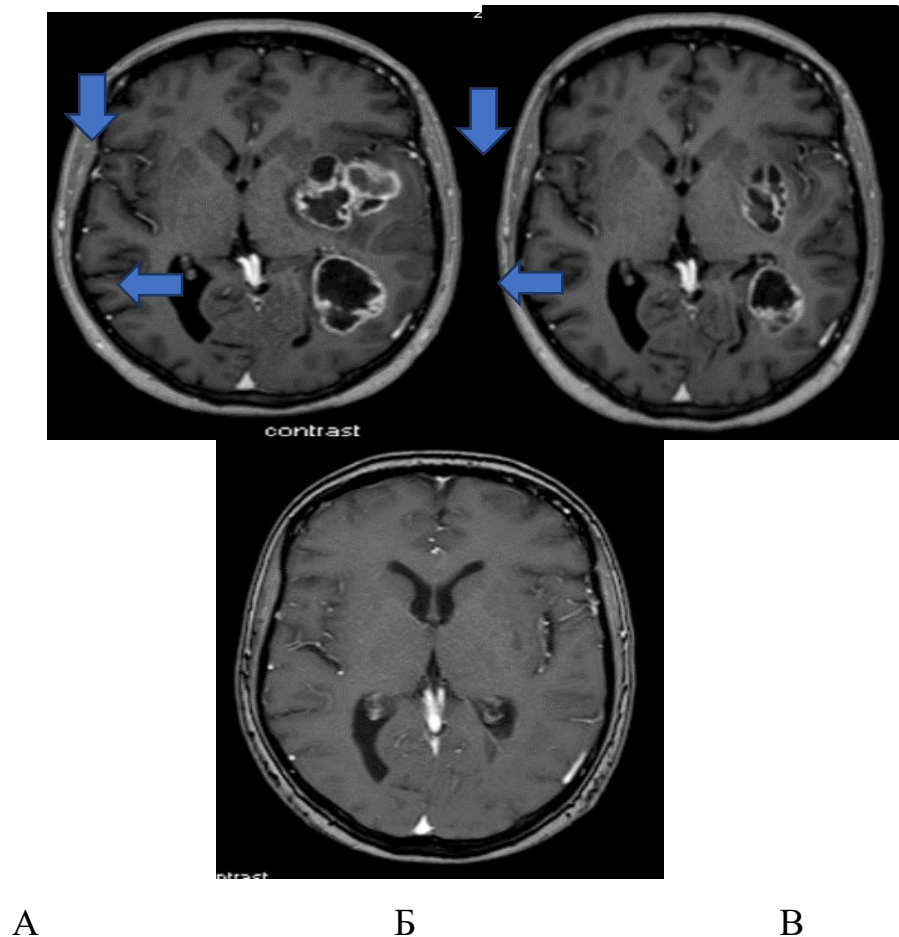


Рис. 3.1. Хворий X, 49 років, історія хвороби №1687193. Швидка відповідь на радіохірургічне лікування мультиформної ГБМ з великими ділянками гіпоксії (дикого типу). МРТ до СРХ (А). По периферії пухлини, у зоні проміжної гіпоксії визначається значне посилення сигналу як за рахунок накопичення контрастної речовини, так і внаслідок інтенсивного насичення киснем ("киснева проба"), сині стрілки. МРТ через 3 тижні (Б), значне зменшення об'єму пухлини. МРТ через 3 місяці (В), повний регрес. Проведена СРХ у 5 фракцій з радіосенсибілізацією киснем (РОД 8 Гр, СОД 40 Гр). Лікування супроводжувалося прийомом темозоломід (дозування 75мг/м²). Далі було проведено 8 курсів темозоломід у дозуванні хіміотерапії.

В даному випадку хворий віднесений до групи 1 (показники ADC становили 0,9±0,11x10⁻³мм²/с до прийому РС, та 1,0±1,17x10⁻³мм²/с через 30 хвилин після прийому РС (насичення 95% киснем). І ми бачимо показники ефективності

лікування у вигляді швидкого зменшення об'єму пухлини вже через 3 тижні після СРХ+РС. Об'єм пухлини зменшився на 68,2%. Показники ADC збільшилися до $1,2 \pm 0,04 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$. Через 3 місяці пухлина повністю регресувала.

За даними показників ADC у зоні проміжної гіпоксії пухлини, ми розглядали можливість проведення радіосенсибілізації для покращення ефективності радіохірургічного лікування гліобластоми (табл. 3.2.).

Таблиця 3.2.

Динаміка показників ADC в ділянці проміжної гіпоксії гліобластоми до та після прийому нітроїмідазолів

ADC ($10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$)			
Терміни спостереження	Регресія вогнища (n=13)	Стабільні вогнища (n=5)	Прогресування захворювання (n=2)
До прийому РС	0,7-0,9 \pm 0,00	0,7-0,9 \pm 0,00	0,7-0,8 \pm 0,00
Після прийому РС	1,0-1,1 \pm 0,00*	0,8-0,9 \pm 0,00	0,7-0,8 \pm 0,00

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками в групах складає ($P < 0,05$, χ^2 test).

Наші спостереження продемонстрували можливості більш ефективної та швидкої радіосенсибілізації сумішшю з 95% киснем (протягом 30 хвилин після введення кисню) за рахунок використання оксигенатора та переваги перед киснеподібними сполуками нітроїмідазолів. У цьому плані були важливими показники ADC в ділянці проміжної гіпоксії гліобластоми, які можна розглядати, і як показання до призначення радіосенсибілізації, і як предиктори успішності радіохірургічного лікування (табл. 3.3).

Таблиця 3.3.

Динаміка показників ADC в ділянці проміжної гіпоксії гліобластоми до та після радіосенсибілізації киснем

ADC (10^{-3} мм ² /с)			
Терміни спостереження	Регресія вогнища (n=13)	Стабільні вогнища (n=5)	Прогресування захворювання (n=2)
Перед прийомом РС	0,7-0,9±0,00	0,7-0,9±0,00	0,7-0,8±0,00
Після прийому РС	1,1-1,2±0,00*	0,8-1,0±0,00	0,7-0,8±0,00

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками в групах складає ($P < 0,05$, χ^2 test).

Найбільш ранніми та показовими були зміни показників ADC у ділянці проміжної гіпоксії через тиждень після радіохірургічного лікування з радіосенсибілізацією нітроїмідазолами (табл. 3.4) та киснем (табл. 3.5).

Таблиця 3.4

Динаміка змін ADC у зоні проміжної гіпоксії гліобластоми через тиждень після радіохірургії з радіосенсибілізацією нітроїмідазолами

ADC (10^{-3} мм ² /с)			
Термін спостереження	Регресія пухлини (n=36)	Стабілізація процесу (n=25)	Прогресування захворювання (n=2)
Початковий ADC	0,7-0,9±0,00	0,7-0,9±0,00	0,7-0,8±0,00
Через тиждень після СРХ	1,0-1,1±0,00*	0,8-0,9±0,00	0,7-0,8±0,00

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками в групах складає ($P < 0,05$, χ^2 test).

Таблиця 3.5

Динаміка змін ADC у зоні проміжної гіпоксії гліобластоми через тиждень після радіохірургії з радіосенсибілізацією киснем

ADC (10^{-3} мм ² /с)

Термін спостереження	Регресія пухлини (n=36)	Стабілізація процесу (n=25)	Прогресування захворювання (n=2)
Початковий ADC	0,7-0,9±0,00	0,7-0,9±0,00	0,7-0,8±0,00
Через тиждень після СРХ	1,1-1,2±0,00*	0,9-1,0±0,00	0,8-0,9±0,00

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками в групах складає ($P < 0,05$, χ^2 test).

Дані таблиць 3.4 - 3.5 свідчать, що згідно змін показників ADC у ділянці проміжної гіпоксії гліобластоми через тиждень після радіохірургії, можна прогнозувати результат лікування.

Так, ADC з показниками від 0,7 до $0,8 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ ($< 0,9$) відповідав, в основному, 3 прогностичній групі з прогресуванням захворювання протягом 10 місяців. Пацієнти з ADC показниками $0,8-0,9 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ склали, в основному, 2-у групу зі стабільним станом пухлини; а хворі з ADC показниками більше 0,9 ($1,0-1,2$) $\times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ – 1-у групу (ремісія протягом 15 місяців після радіохірургії).

Таким чином, можливості реоксигенації значно покращують результати лікування гіпоксичних пухлин (рис. 3.2).

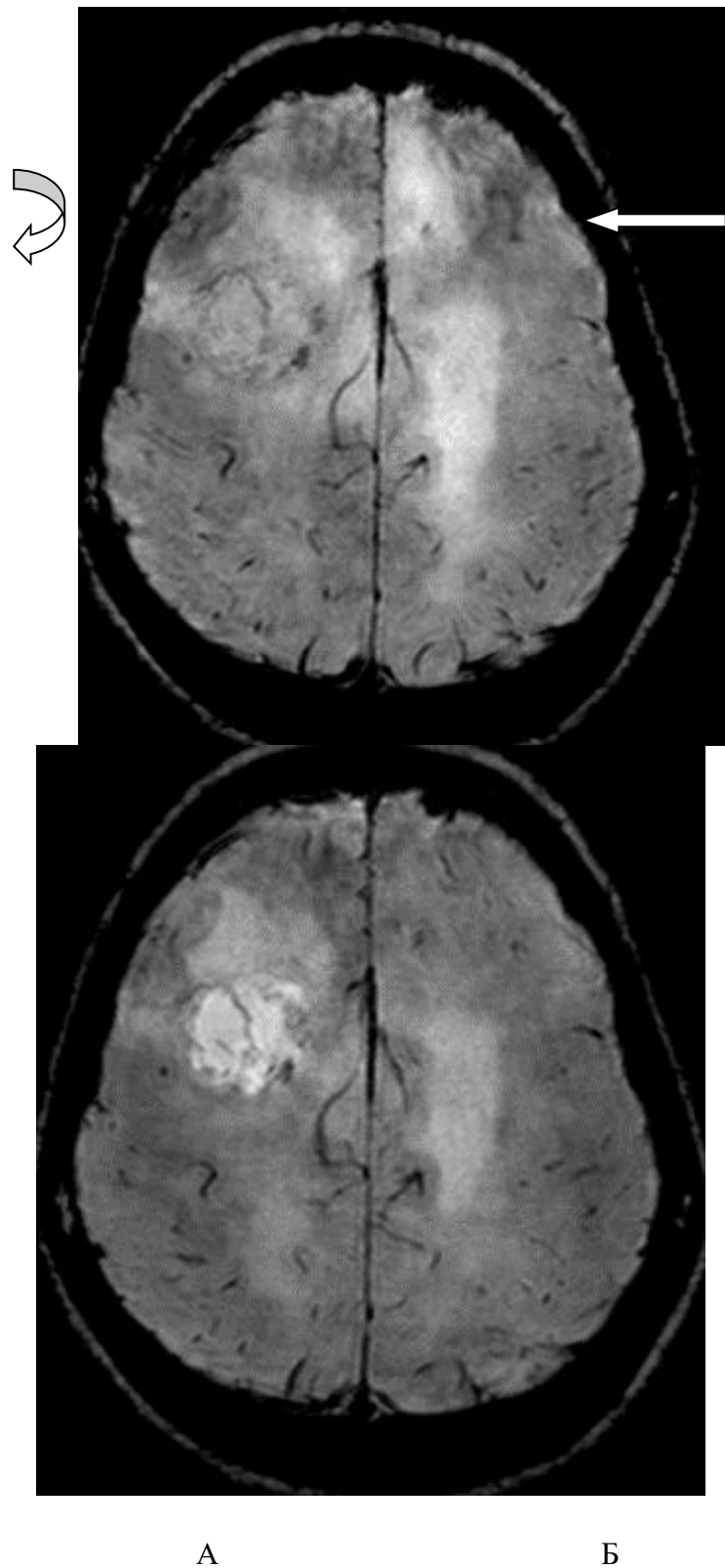


Рис. 3.2. Приклади реоксигенації ГБМ після введення кисню (O_2). МРТ у програмі BOLD до введення O_2 (А) (біла крива стрілка), та після, через 30 хвилин (Б) (біла пряма стрілка).

МР-сигнал від пухлини у правій задньо-лобно-тім'яній ділянці, парасагітально, після введення кисню, різко посилюється, контури пухлини (гліобластоми) стали чіткими, що допомогло визначити тактику радіохірургічного лікування.

Завдяки можливостям оксигенатора ми могли проводити МРТ з посиленням кисню (OE-MRI), оскільки це засновано на кореляції між гіпоксією та зміною швидкості поздовжньої релаксації ($\Delta R1$) під час кисневого навантаження.

Найбільш значущими та показовими були приклади оксигенації гліобластоми після введення пацієнтам інфузії суміші кисню, коли пухлина ставала гіперінтенсивною, яскравою, за рахунок насичення киснем у програмі BOLD або T2* (рис.3.3).

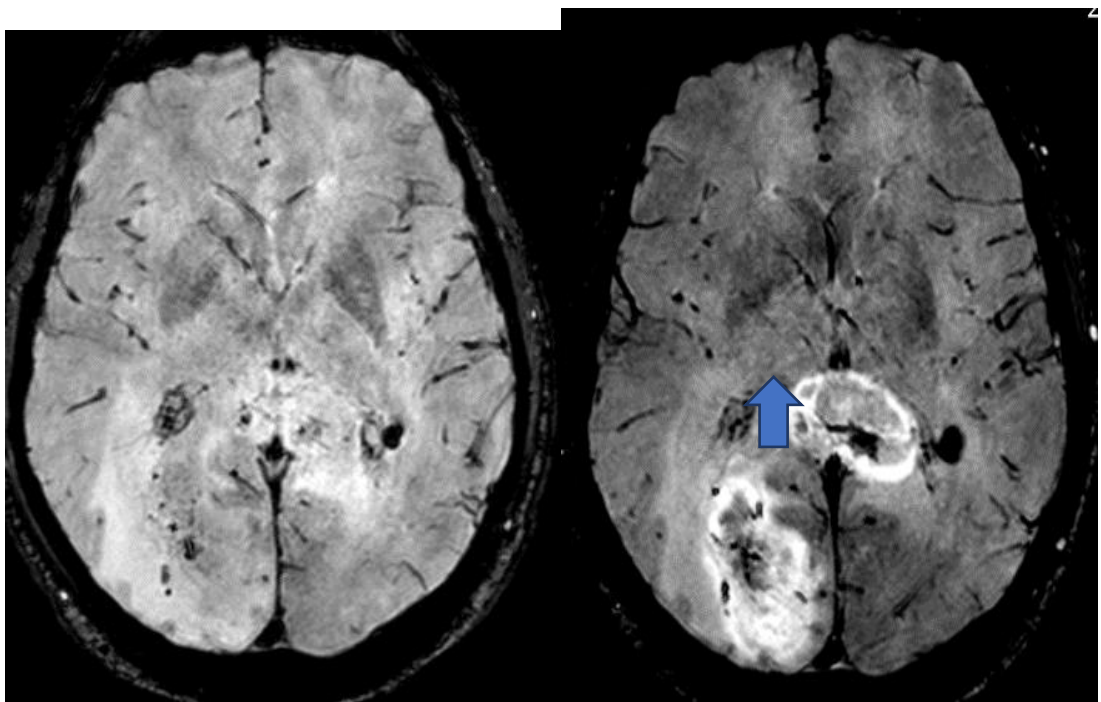


Рис. 3.3. Приклади реоксигенації ГБМ після введення кисню (CPX+O₂). МРТ T2* до введення O₂ (А) та після, через 5 годин (Б). МР-сигнал значно посилюється, переважно у зоні пухлинної гіпоксії, за рахунок реоксигенації (стрілка). Для лікування цієї мультиформної гліобластоми було обрано тактику CPX з використанням радіосенсибілізації (CPX+O₂).

МРТ показники через 6 тижнів після СРХ показові в сенсі ефективності лікування після реоксигенації з радіосенсибілізацією нітроїмідазолами (табл. 3.6), а також киснем (табл. 3.7).

Таблиця 3.6.

Динаміка змін ADC у зоні проміжної гіпоксії гліобластоми через 6 тижнів після радіохірургії з радіосенсибілізацією нітроїмідазолами

ADC (10^{-3} мм ² /с)			
Термін спостереження	Регресія пухлини (n=13)	Стабілізація процесу (n=5)	Прогресування захворювання (n=2)
Початковий ADC	0,7-0,9±0,00	0,7-0,9±0,0	0,7-0,8±0,00
Через тиждень після СРХ	1,0-1,1±0,00*	0,8-0,9±0,00	0,7-0,8±0,00
Через 6 тижнів після СРХ	1,1-1,2±0,00*	0,9-1,0±0,00*	0,7-0,8±0,05

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками у групах складає (P <0,05, χ^2 test).

Таблиця 3.7.

Динаміка змін ADC у зоні проміжної гіпоксії гліобластоми через 6 тижнів після радіохірургії з радіосенсибілізацією киснем

ADC (10^{-3} мм ² /с)			
Термін спостереження	Регресія пухлини (n=13)	Стабілізація процесу (n=5)	Прогресування захворювання (n=2)
Початковий ADC	0,7-0,9±0,00	0,7-0,9±0,0	0,7-0,8±0,00
Через тиждень після СРХ	1,0-1,2±0,00*	0,9-1,0±0,00	0,8-0,9±0,00
Через 6 тижнів після СРХ	1,2-1,3±0,00*	1,1-1,2±0,00*	0,7-0,9±0,00

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками у групах складає (P <0,05, χ^2 test).

Отримані дані в наших дослідженнях показали, що найважливішою складовою роботи є кисень, який є індиктором гіпоксії, з одного боку, при виконанні "кисневої проби", і який за наявності гіпоксії є ефективним радіосенсибілізатором при лікуванні гліобластоми, що наочно демонструють нижченаведені зображення СРХ мультифокальної ГБМ (рис. 3.4).

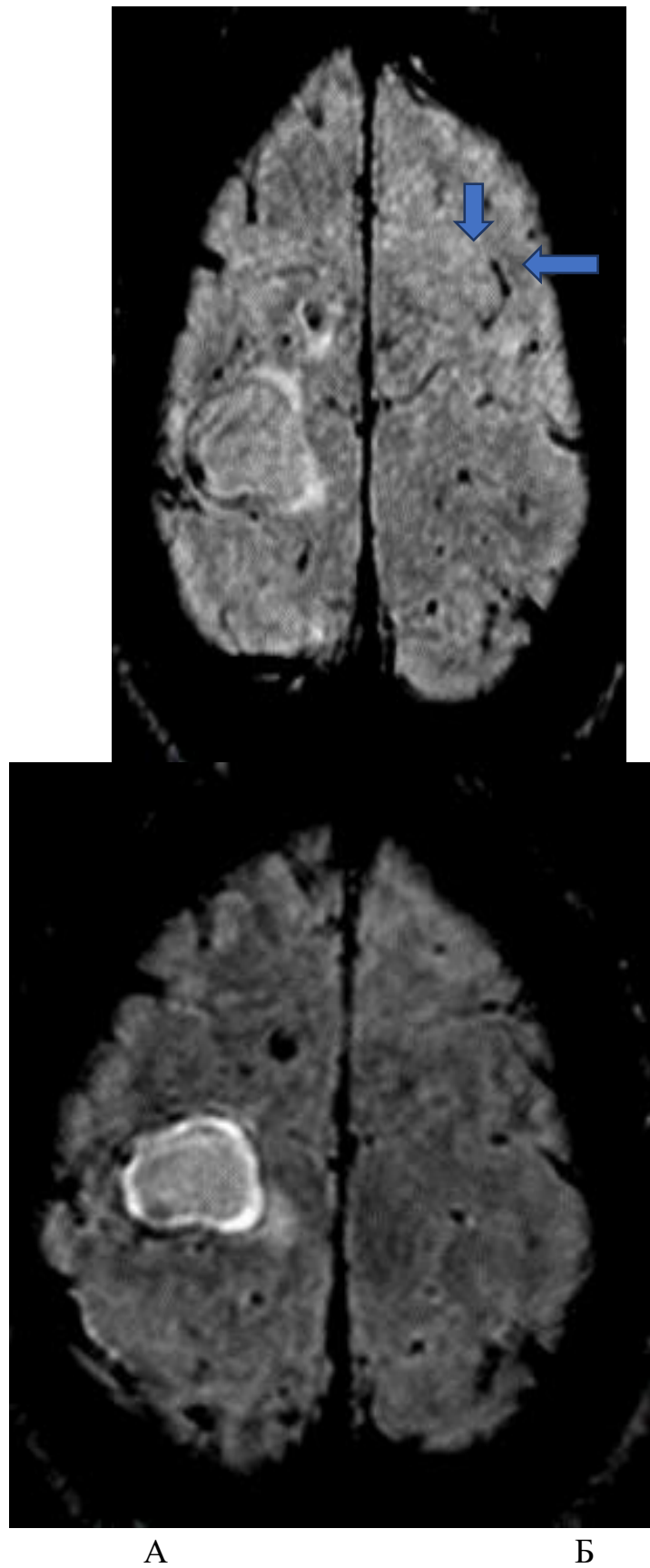


Рис. 3.4. МРТ зображення в програмі BOLD до «кисневої проби» (А), та після (Б). Обідок по колу гліобластоми яскравого сигналу демонструє ділянку, де відбулося активне насичення киснем (стрілки).

Як ми бачимо, гіпоксична зона зовнішнього кола гліобластоми виявляється тільки в програмі BOLD і тільки після "кисневої проби" до та після введення 95% кисню за допомогою оксигенатора.

І отримані результати радіохірургічного лікування з радіосенсибілізацією 95% киснем до сеансу СРХ демонструють швидку та ефективну відповідь вже через 3 місяці після радіохірургії (рис.3.5) і з повною редукцією пухлинного осередку через 6 місяців після СРХ (рис.3.6).

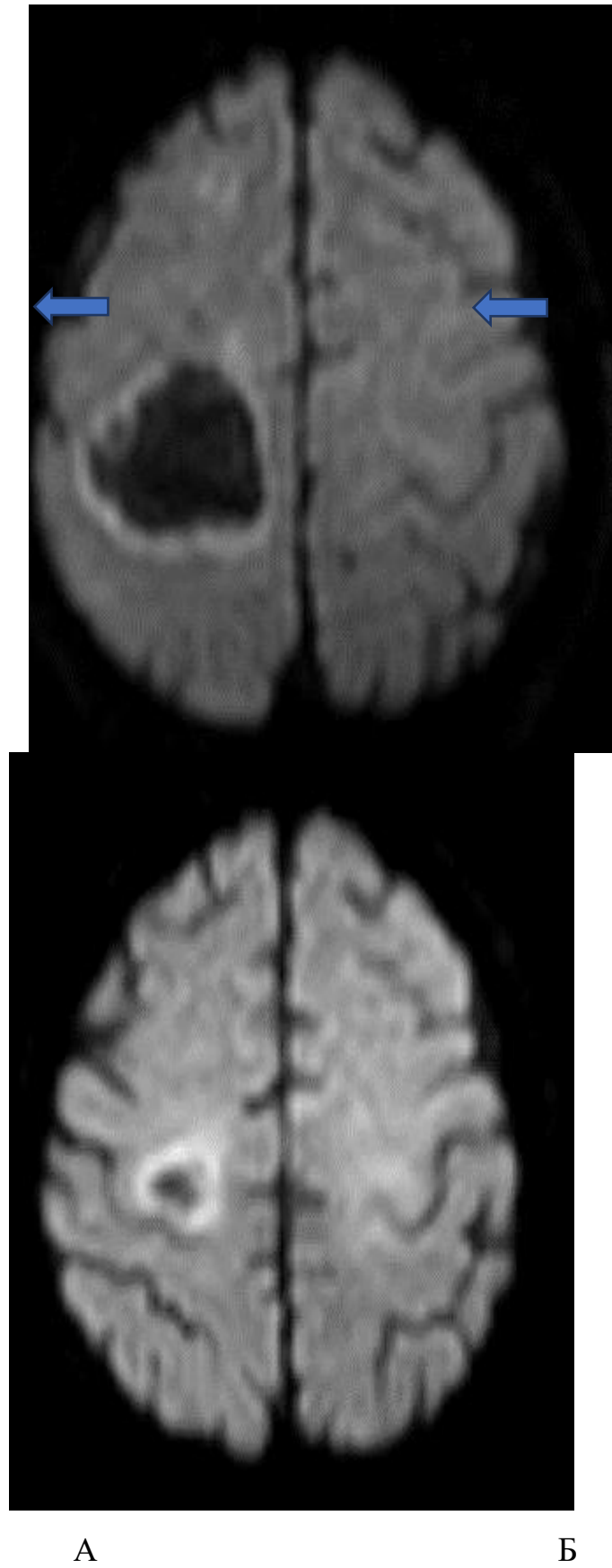


Рис. 3.5. МРТ до СРХ з радіосенсибілізацією 95% киснем (А, синя стрілка), та через 3 місяців (Б). Зменшення пухлини до 80,0%.

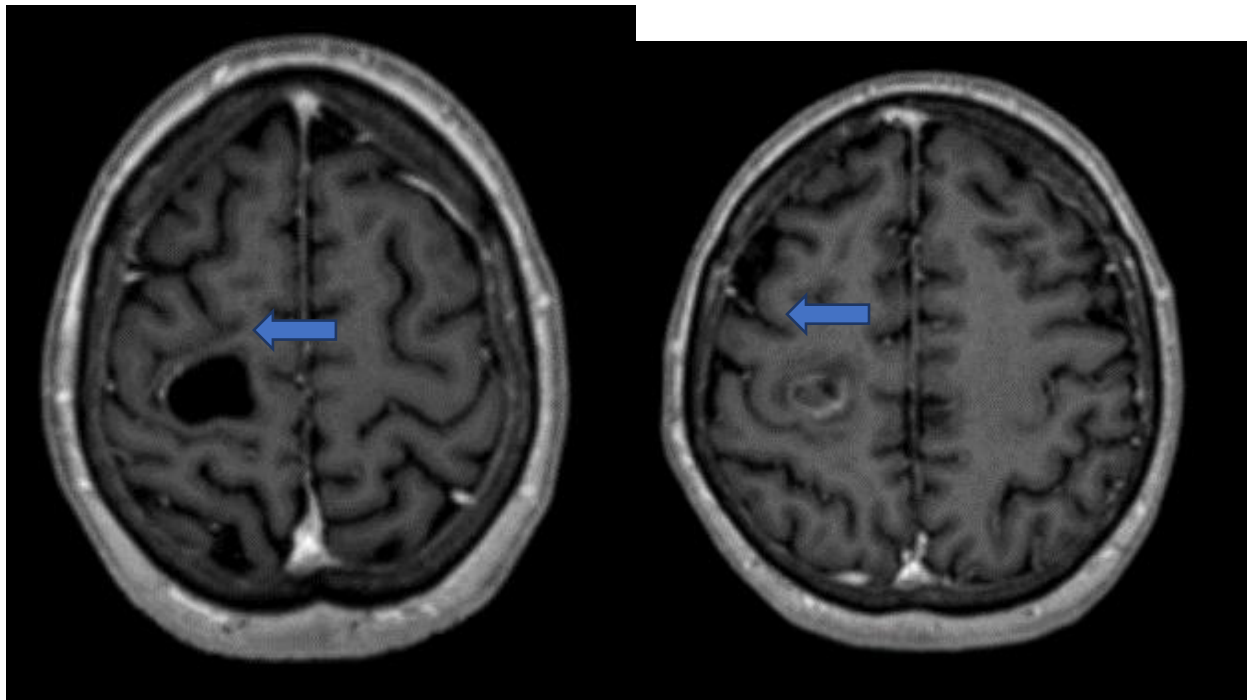


Рис. 3.6. МРТ до СРХ з радіосенсибілізацією 95% киснем (А, синя стрілка), та через 6 місяців (Б). Повна редукція пухлини.

Складність цього випадку визначалася ще й мультифокальністю пухлини та осередком відсіву в гемісферу мозочка, через 8 місяців після першої радіохірургії, на який була проведена повторна СРХ з киснем, з аналогічною ефективністю (рис. 3.7).

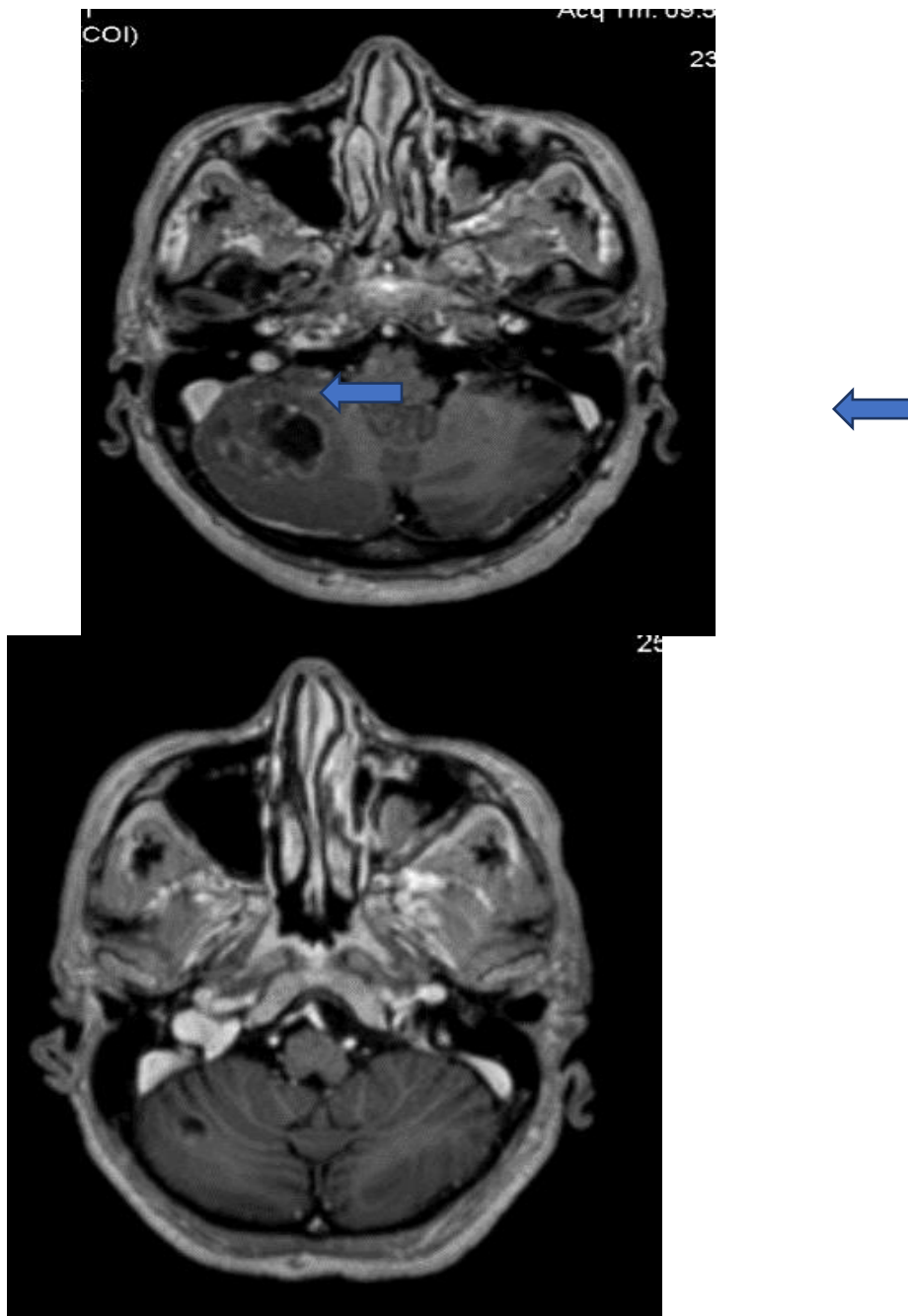


Рис. 3.7. Вогнище відсіву в праву гемісферу мозочка. МРТ до СРХ з киснем (А, синя стрілка), та після СРХ з киснем через 6 місяців (Б).

Даний випадок демонструє значне зменшення вогнища відсіву через 6 місяців після СРХ с киснем.

Описані вище дані про взаємозв'язок можливостей візуалізації гіпоксичних ділянок пухлини завдяки "кисневій пробі", даних програми BOLD, та коефіцієнта дифузії (ADC), у тому числі в зоні проміжної гіпоксії, ранньої відповіді пухлини на радіохірургічне лікування з рівнем дифузійних процесів та об'ємним

зменшенням вогнища, систематизовані розрахунком чутливості та специфічності відповідних показників через 6 тижнів після лікування (табл. 3.8).

Таблиця 3.8.

Чутливість та специфічність ADC в ділянці проміжної гіпоксії, програмі BOLD, та об'ємна регресія пухлини у прогнозі успішності СРХ

Показники (%)	ADC в ділянці проміжної гіпоксії	Дані BOLD	Об'ємна регресія пухлини
Чутливість	94,0	90,2	82,0
Специфічність	83,1	86,0	68,2

Таким чином найбільш чутливим прогностичним тестом для ефективності СРХ є МРТ DWI з визначенням коефіцієнта дифузії в ділянці проміжної гіпоксії (чутливість – 94,0%, специфічність – 83,1%), при цьому вищі показники специфічності (86,0) демонструє програма BOLD, найменш чутливі (82,0%) та специфічні (68,2%) показники ранньої об'ємної регресії пухлини.

Для підтвердження достовірності наочності показників ADC та BOLD після СРХ з радіосенсибілізацією як предикторів ранньої відповіді на лікування проведено відповідні статистичні розрахунки.

Використаний точний критерій Фішера для перевірки нульової гіпотези про відсутність статистичної відмінності між групами за частотами відповідних показників (з рівнем статистичної значущості 0.05) та таблиці крос-табуляції для відповідних частот показника та фактора, за яким порівнювалися основна та контрольна групи (табл. 3.9).

Таблиця 3.9.

Перевірка Н0 про відсутність статистичної різниці між групами за частотами відповідних показників

Summary Frequency Table (INPUT_ver_02_розрахункова)				
Marked cells have counts > 10 (Marginal summaries are not marked)				
	ADC (6 тижнів після CPX збільш. = 1)	Когорта: основна = 1, контрольна = 0 0	Когорта: основна = 1, контрольна = 0 1	Row Totals
Count	0	71	16	88
Row Percent		86,17%	17,81%	
Total Percent		25,32%	7,26%	30,41%
Count	1	37	138	155
Row Percent		22,35%	77,34%	
Total Percent		15,25%	55,23%	55,42%
Count	All Grps	40	88	160
Total Percent		32,84%	58,52%	

На підставі отриманих даних з достовірною значущістю 0.0000 підтверджено, що збільшення показника ADC, та зниження показників BOLD є предиктором ранньої відповіді на радіохірургічне лікування гліобластоми.

3.2. Радіохірургічне лікування гліобластоми з використанням радіосенсибілізаторів (нітроїмідазолів)

Стереотаксична радіохірургія (CPX) гліобластоми проведена у 106 пацієнтів (середній вік 55 роки, інтервал 29-82), 71 чоловік (62,26%), та 45 жінок (37,73%) за одну чи декілька фракцій. Серед пацієнтів основну групу склали 66 хворих, яким CPX проводили з радіосенсибілізацією. 30 з них приймали радіосенсибілізатор метронідазол (CPX M+), та 36 - німоразол (CPX H+). 40

пацієнтів склали контрольну групу, яким проводили СРХ без радіосенсибілізації (СРХ РС-), (табл. 3.10).

Таблиця 3.10.

Розподіл пацієнтів в основній та контрольній групах n=106

Розподіл хворих за групами	Основна група n=66	Контрольна група n=40
Гліобластоми первинні	40 (60,6)	26 (65,0)
Гліобластоми рецидивні	26 (39,3)	14 (35,0)
≤18,4 Гр n=29 (38,15)	18 (15,15)	11 (25,0)
≥18,4 Гр n=47 (61,84)	27 (84,84)	20 (75,0)
≤32,75 Гр n=15 (50,0)	9 (60,0)	6 (40,0)
≥32,75 Гр n=15 (50,0)	8 (53,3)	7 (46,6)

Примітка. 18,4 Гр - середня доза при однофракційній СРХ; 32,75 Гр – сумарна доза при СРХ за 5 фракцій.

Протягом першого тижня після СРХ проводили повторне МРТ з метою оцінки показників коефіцієнта дифузії (ADC) в зоні проміжної гіпоксії для визначення можливих предикторів на радіохірургічне лікування гліобластоми з використанням радіосенсибілізації.

За допомогою послідовності GRE з кількома ехо-сигналами, чутливою до змін властивостей локального магнітного поля, ми визначали зображення дезоксигемоглобіну та статичних компонентів тканини, T2* швидкість релаксації ($R2^*=1/ T2^*$). Зміни R2* зображення свідчили про збільшення оксигенації тканин за рахунок покращеного кровотоку та судинної функції (рис. 3.8).

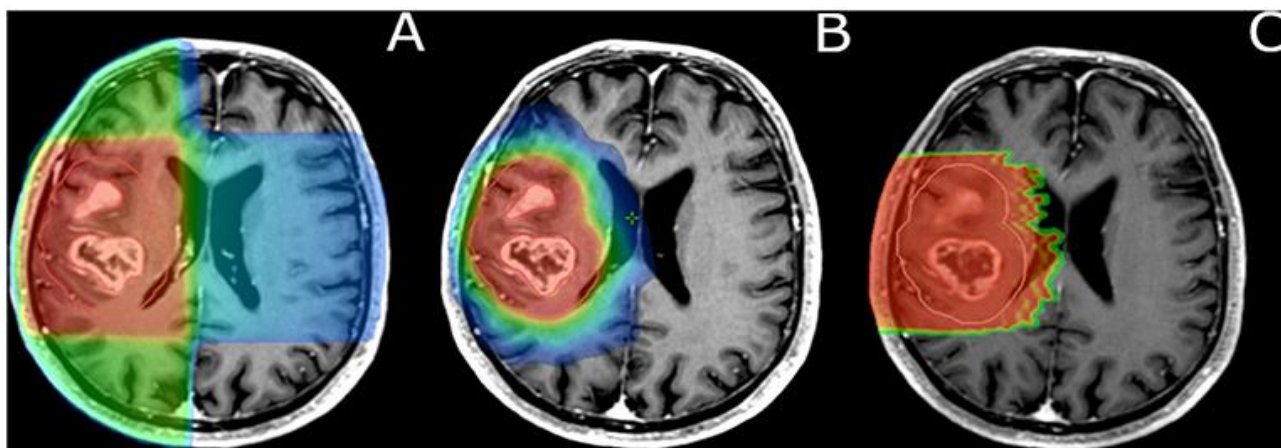


Рис. 3.8. Порівняння розподілу дози та цільового охоплення ГБМ у 3D-CRT (А), IMRT (В) та CPX (С) показують точніше покриття мішені з підвищеним збереженням нормальних тканин. Для клінічного застосування картини дози потрібні ці точні методи RT (В, С). У поточній рутинній клінічній практиці цільового обсягу призначають однорідну дозу та розподіляють незалежно від потенційних гіпоксичних субоб'ємів.

Гліобластоми в нашому дослідженні показали сильні, але неоднорідні зміни сигналу при диханні киснем, особливо у ділянках з високим сигналом на T2 - зважених зображеннях. BOLD-MRI забезпечує зображення венозної васкуляризації з високою роздільною здатністю, та дозволяє проводити регіональну оцінку пухлин головного мозку.

Для непрямого вимірювання змін оксигенації в тканинах пухлини ми використовували неінвазивний метод MPT BOLD.

У BOLD-MRI на контраст тканини впливають внутрішні властивості тканини (спін-решітчаста та спін-спінова релаксація), а також кровотік та парамагнітний дезоксигемоглобін в еритроцитах (на відміну від оксигемоглобіну, який не є парамагнітним). Дезоксигемоглобін збільшує швидкість поперечної релаксації MR ($R2^*$) води в крові та навколишніх тканинах. Таким чином, BOLD-MRI чутлива до змін pO_2 в судинах і в тканинах, прилеглих до судин, що перфузуються. Гіпоксичні пухлини з великим об'ємом крові (через високу щільність мікросудин у поєднанні з великими судинами) мали підвищені вихідні

значення $R2^*$, та реагували на O_2 з подальшими великими змінами $R2^*$ та позитивною радіосенсибілізацією.

Особливостями гліобластоми є радіорезистентність, тому ми намагалися, дотримуючись показників толерантності мозкових структур, підвести максимальну дозу на пухлине вогнище. На етапі діагностики було пріоритетно визначення ступеня гіпоксії пухлини (гострої чи хронічної), та обсяг гіпоксичної частки. Найбільш важливим моментом було визначення проміжної гіпоксії у тканині пухлини та гіпоксичної пенумбри, а також можливості оксигенації, яку ми визначали за допомогою кисневої проби. Ми робили МРТ (з обов'язковим проведенням програми BOLD), визначали гіпоксичні фракції пухлини, а потім протягом 20 хвилин проводили інфузію киснем і знову повторювали МРТ за програмою BOLD для візуалізації оксигенації, її характеру, з отриманням піку інтенсивності сигналу (ПІС) в зоні активного пухлинного росту, до піку насичення пухлини (ПНП), всього її об'єму. Що в наших спостереженнях склало: ПІС через 20 хвилин після інфузії кисню та ПНП ще через 20 хвилин. Таким чином, ми вираховували часовий інтервал, в якому ми повинні проводити сеанс радіохірургії, від моменту піку інтенсивності сигналу в зоні активного пухлинного росту, до моменту повного насичення пухлинної тканини O_2 (рис. 3.9).

Використання радіосенсибілізації підвищило радіочутливість пухлин та дало прийнятні результати лікування. Протягом тижня було отримано ранню відповідь на СРХ з радіосенсибілізацією, більш виражену в підгрупі СРХ з використанням німоразолу у порівнянні з метронідазолом (табл. 3.11.).

Ми враховували лише ті випадки, коли об'єм пухлини зменшився не менше ніж на 10%. І з таблиці видно, що відсоток ранньої відповіді, виходячи з кількості пухлинних вузлів та зменшення об'єму пухлини, переважали в підгрупі з використанням гіпоксичного радіосенсибілізатора німоразолу, в порівнянні з підгрупою використання метронідазолу, у співвідношення 54,4 проти 45,4, та 25,0 проти 15,0, відповідно. Зменшення об'єму пухлини у контрольній групі протягом

тижня не визначалося. Зменшення об'єму пухлини починалося з третього дня після початку СРХ з використанням НМР (рис. 3.10.).

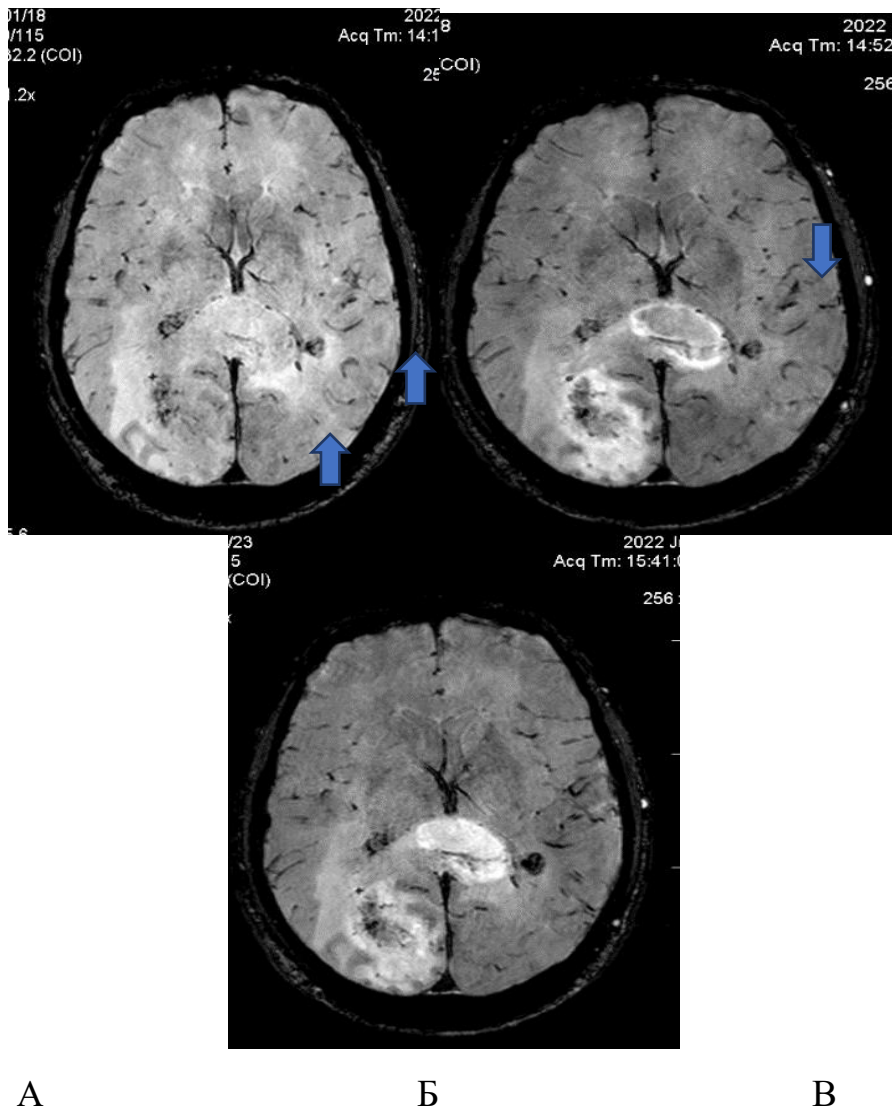


Рис. 3.9. Вплив оксигенації O_2 у програмі BOLD на гіпоксичні зони росту гліобластоми. (А) МРТ у програмі BOLD до інфузії O_2 (тканина пухлини майже не відрізняється від мозкових структур). (Б) МРТ через 20 хвилин після інфузії O_2 демонструє значне посилення піку інтенсивності сигналу (ПІС) по периферії пухлинних вузлів у зоні активного пухлинного росту (синя стрілка). (В) МРТ через 40 хвилин після інфузії O_2 (після проведення сеансу радіохірургії) демонструє розширення зони оксигенації за рахунок повного насичення об'єму пухлини (ПНП) O_2 (синя стрілка).

Таблиця 3.11.

МРТ контроль ранньої відповіді (через тиждень) на лікування ГБМ після СРХ із застосуванням радіосенсибілізації/без радіосенсибілізації за даними волюметрії

Зміна об'єму вогнищ за даними МРТ після проведення СРХ	Основна група 66 (62,26%)		Контрольна група 40 (37,73%)
	МТН 30 (45,4%)	НМР 36 (54,5%)	
Зменшились	44 (66,6%)		0 (0)
	18(27,2%)	30(45,4%)	
Збільшились	0 (0)		0 (0)
	0 (0)	0 (0)	
Стабільні	22 (33,3%)		40 (100,0)
	12 (18,1%)	6 (9,09%)	
Медіана зменшення об'єму ГБМ (%)	20,0%		-
	15.0%	25.0%	

Примітка. МТН – метронідазол, НМР – німоразол.

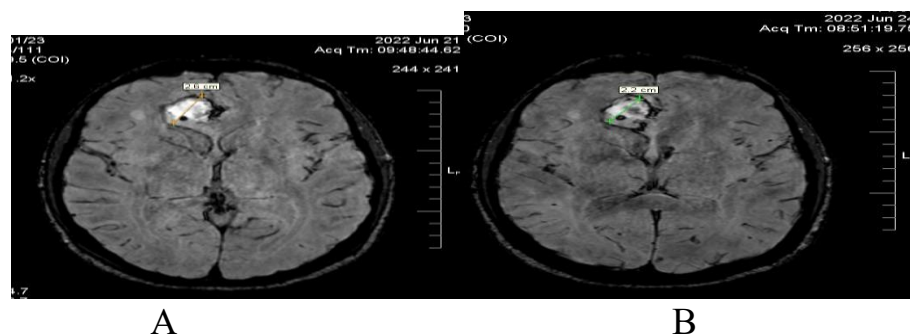


Рис. 3.10. (А) МРТ до лікування у програмі BOLD, (Б) МРТ через 3 дні після лікування (СРХ+НМР). Діаметр вогнища зменшився з 2,6 см³ до 2,2 см³. Об'єм пухлини зменшився з 8,57 см³ до 5,32 см³ (на 6,02%).

Радіочутливість пухлин у підгрупі з радіосенсибілізатором метронідазолом була меншою в порівнянні з підгрупою РС німоразолом (табл.3.12).

Таблиця 3.12.

**Характеристики ефективності радіохірургії в основній та контрольній групі
через 4 тижні після СРХ з показниками подальшого локального контролю
росту пухлини та виживання**

Група/ характеристики	Основна група				Контрольна група	
	Хворі n=66		Вогнище n=80		Хворі 40 abc (%)	Вогнище n=44
	МТН n=30 abc (%)	НМР n=36 abc (%)	МТН n=34 abc (%)	НМР n=42 abc (%)		
Рання відповідь	55 (83,3)		61 (76,25)		0 (0)	0 (0)
	20 (66,6)	35 (97,2)	22 (64,7)	39 (92,8)		
Зменшення зони набряку	62 (93,9)		70 (87,5%)		4 (10,0)	8 (10,0)
	26 (86,6)	36 (100,0)	30 (88,2)	40 (95,2)		
Регресія неврологічної симптоматики	50 (75,7)				6 (15,0)	
	20 (66,6)	30 (83,3)	-			
Безрецидивний період протягом 10 місяців	63 (95,45)				30 (75,0)	
	28 (93,33)	35 (97,22)	-			
Медіана загальної виживаності	18,4 місяців				12,0 місяців	
	18,0 місяців	18,8 місяців	-			
Післяпроменева реакція	11 (16,6)		13 (16,2)		4 (10,0)	6 (13,6)
	5 (10,0)	6 (5,6)				
Радіонекроз	4 (6,06)		4 (6,06)		5 (12,5)	5 (12,5)
	3 (10)	1 (2,7)				

Примітка. МТН – метронідазол, НМР – німоразол.

З таблиці видно, що у контрольній групі протягом 4 тижнів після радіохірургічного лікування, ознак ранньої відповіді не спостерігалось, відзначалися лише ознаки зменшення зони набряку та регрес симптоматики, у невеликому відсотку випадків, 10,0% і 14,2%, відповідно, у той час, як ці показники в підгрупах з радіосенсибілізацією становили 93,9% і 75,7%, відповідно.

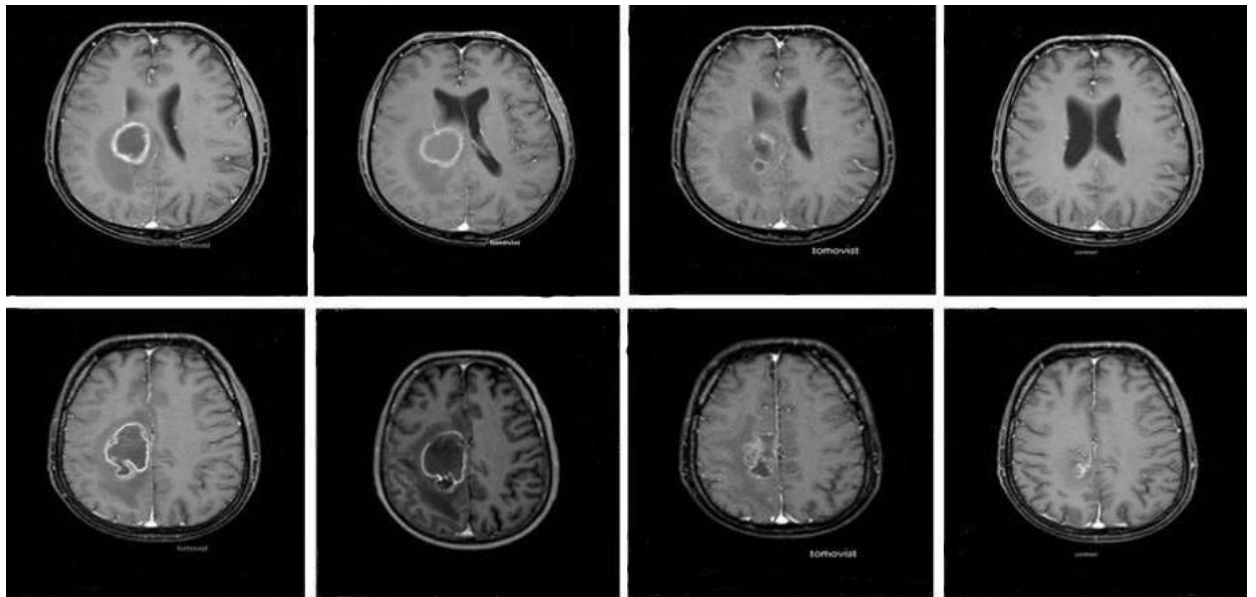
Відсоток післяпроменевих побічних ефектів після СРХ не значно відрізнявся в основній та контрольній групах (16,6% в основній групі, проти 10,0% в контрольній), проте у підгрупі з використанням НМР цей відсоток був найменшим і становив лише 5,6%.

Відсоток пацієнтів, у яких розвинувся променевий некроз у термін від 60 до 288 днів після СРХ в основній групі був у два рази менший у порівнянні з контрольною групою (6,06% проти 12,5%), ($p < 0,002$, лог-ранговий критерій). При тому, що у підгрупі з МТН він також був високим і становив - 10%, тоді як у підгрупі з НМР лише 2,7%.

Таким чином, за рахунок підвищення радіочутливості пухлини, зменшувалась лікувальна доза на пухлину, що відповідно зменшувало кількість випадків радіонекрозу.

У підгрупі з метронідазолом у 6,6% хворих спостерігалися ознаки помірної токсичності у вигляді прояву нудоти і в цих випадках, для зняття цих проявів, ми застосовували метоклопрамід. У підгрупі з німоразолом ознак токсичності не визначалося.

Прикладом найбільш ефективного застосування СРХ з метронідазолом при лікуванні гліобластоми є пацієнт Г., у якого, незважаючи на великий об'єм пухлини (до 30 см³), ми провели одноразову СРХ з дозуванням у 14 Гр. (рис. 3.11.).



А

Б

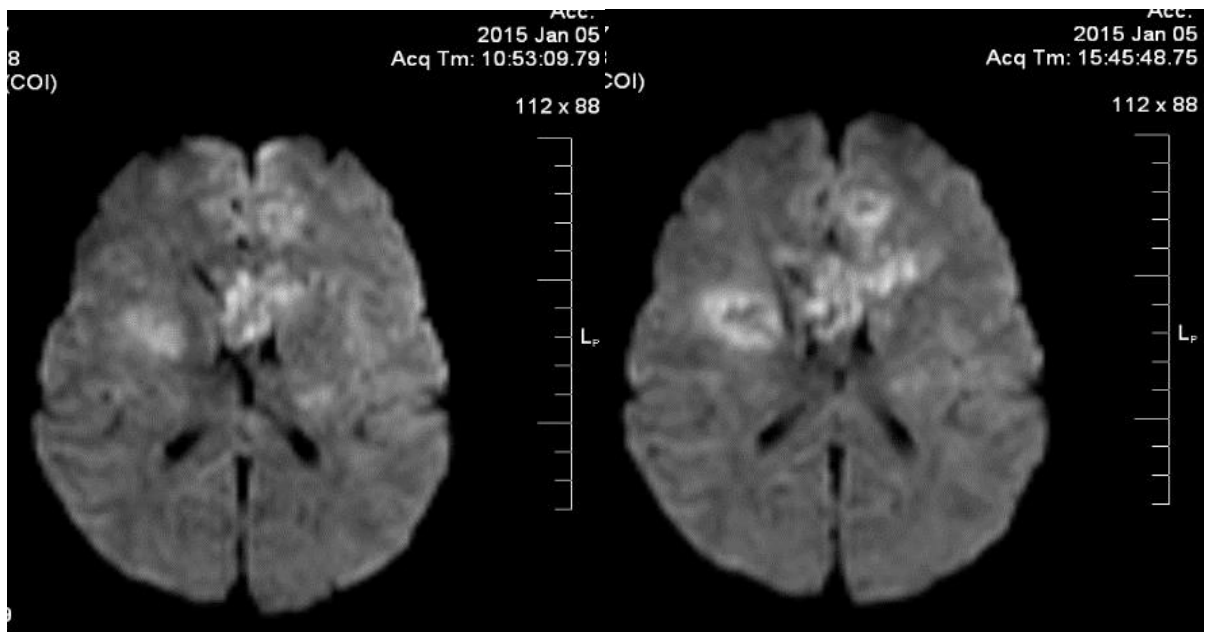
В

Г

Рис. 3.11. Пацієнт 55 років. За даними біопсії - гліобластома. Проведена СРХ в одну фракцію. (А) МРТ до СРХ, (Б) після СРХ - через тиждень, (В) через 3 тижні і (Г) через 4 тижні. Радіомодифікація проводилася метронідазолом. В подальшому проведено 10 сеансів хіміотерапії (темозоламід). Повна відповідь на лікування. Досягнуто контроль росту пухлини. Безрецидивний період становив 37 місяців.

Ефективним радіосенсибілізатором продемонстрував себе метронідазол і при неоперабельних гліобlastомах з мультифокальним ростом та локалізацією у серединних структурах мозку, у тому числі в мозолистому тілі.

Показання до радіохірургічного лікування гліобlastоми з використанням радіосенсибілізаторів ми визначали, досліджуючи можливості оксигенації пухлини (рис. 3.12).



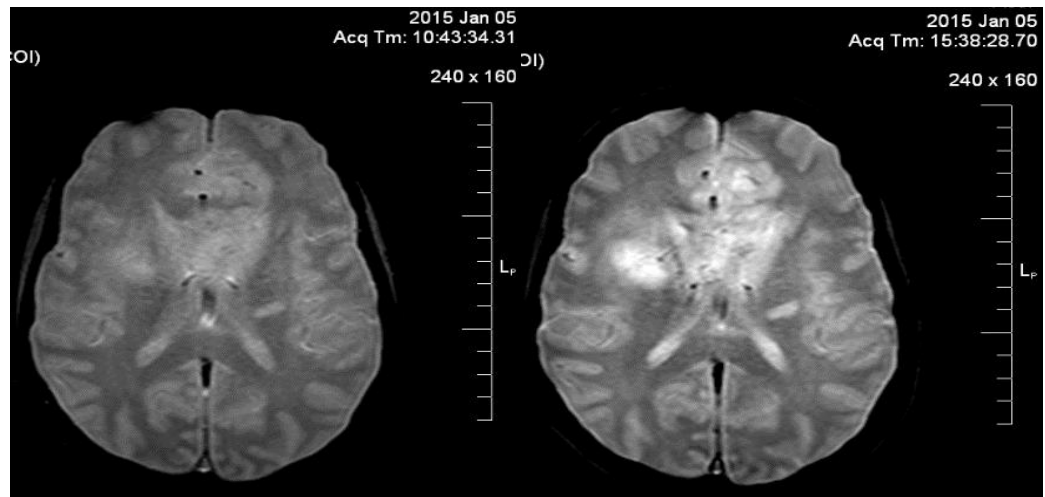
А

Б

Рис. 3.12. Приклади реоксигенації ГБМ після запровадження метронідазолу (МТН). (А) МРТ (дифузно-тензорне зображення) до введення МТН та (Б) після, через 5 годин. МР-сигнал посилювся, контури пухлини (мультифокальної гліобластоми) стали чіткішими. Реальні межі пухлини виявилися набагато більшими, ніж вони візуалізувалися до введення МТН, що вплинуло на тактику лікування.

Як видно з малюнків, ми використовували дифузно-зважені та дифузно-тензорні зображення, а також програми BOLD та T2*. Це зумовлено тим, що у стандартних МРТ-послідовностях ми не можемо чітко визначати ділянки пухлинної гіпоксії, зони активного пухлинного росту та ділянки реоксигенації. Постконтрастні T133 у цих випадках також не дають необхідної для нашого лікування інформації.

Дані методики, у тому числі T2* дають інформацію про зони найбільш вираженої гіпоксії за рахунок активного пухлинного росту та ступеня реоксигенації для проведення стереотаксичної радіохірургії з використанням радіосенсибілізації (рис. 3.13).



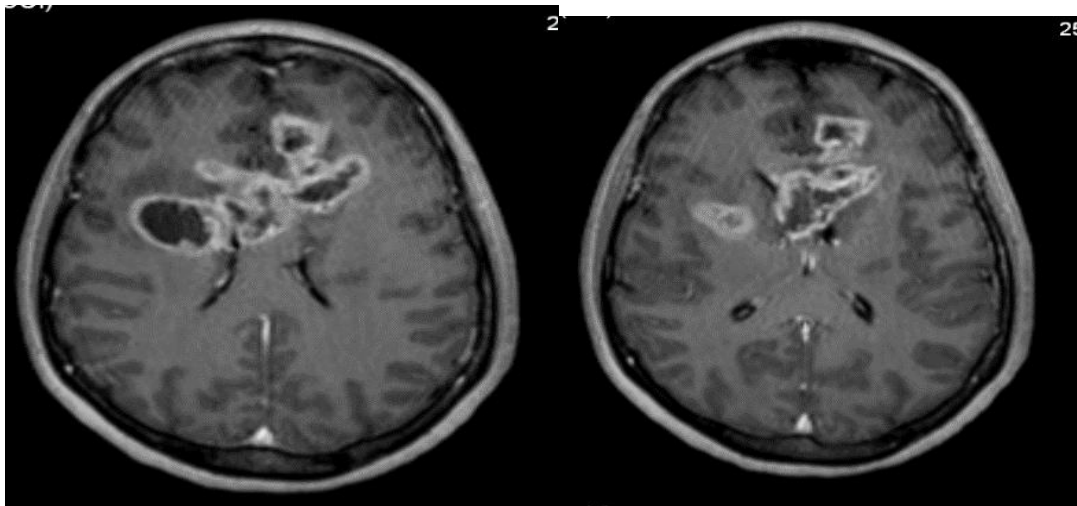
А

Б

Рис. 3.13. Приклади реоксигенації ГБМ після введення МТН. (А) МРТ T2* до введення МТН та (Б) після, через 5 годин. МР-сигнал значно посилюється, переважно у зоні пухлинної гіпоксії, за рахунок реоксигенації. Для лікування цієї мультиформної гліобластоми було обрано тактику СРХ з використанням радіосенсибілізатора (метронідазолу).

Таким чином обов'язковими МРТ-послідовностями для визначення виразності гіпоксії, для виявлення ділянок найбільш активного пухлинного росту та ступеня оксигенації після проб з киснем є програми BOLD, T2* і ДЗЗ (з вимірюванням ADC). Динаміку позитивної відповіді пухлини на лікування ми оцінювали за зменшенням об'єму пухлини протягом перших чотирьох тижнів, не менше 10% об'єму за перший тиждень і не менше 50% об'єму пухлини за перші 4 тижні (рис. 3.14).

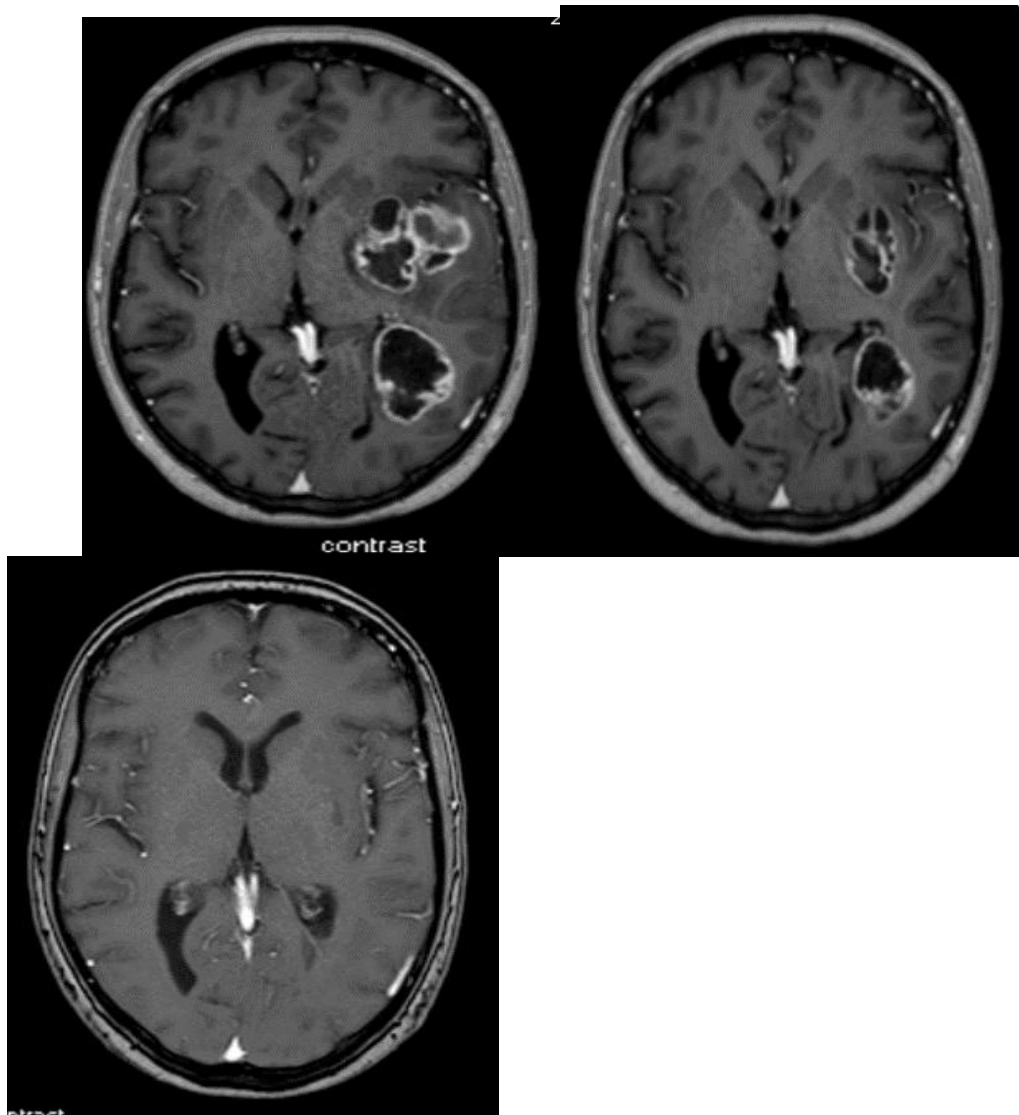
У наших спостереженнях з використанням гіпоксичних радіосенсибілізаторів ми спостерігали більш вражаючі результати швидкої відповіді на радіохірургічне лікування гліобластоми дикого типу, із значним зменшенням об'єму пухлини через 3 тижні (більш ніж на 70%) та з повною відповіддю через 3 місяці (рис. 3.15.).



А

Б

Рис.3.14. (А) Постконтрастне МРТ до радіохірургічного лікування та (Б) після, через 4 тижні. На пухлину було проведено лікування у 5 фракцій по 8 Гр+МТН. Мультифокальні вогнища гліобластоми в ділянці мозолистого тіла некротизувалися, у правій задньо-лобно-тім'яній області, значно зменшилися в обсязі (більш ніж на 30%).



А

Б

В

Рис. 3.15. Швидка відповідь на радіохірургічне лікування мультиформної ГБМ з великими ділянками гіпоксії (дикого типу). (А) МРТ до СРХ, (Б) через 3 тижні та (В) через 3 місяці. Проведено СРХ у 5 фракцій з радіосенсибілізацією (РОД 8 Гр, СОД 40 Гр). Лікування супроводжувалося прийомом темозоломіду (дозування $75\text{мг}/\text{м}^2$). Далі було проведено 8 курсів темозоламиду у дозуванні хіміотерапії ($150\text{--}200\text{мг}/\text{м}^2$) 5 днів на тиждень кожні 28 днів.

У цьому випадку визначалося значне зменшення об'єму мультиформної гіпоксичної ГБМ через 3 тижні (на 78,6%) після проведення СРХ з гіпоксичною радіосенсибілізацією німоразолом і повна відповідь через 12 тижнів (3 місяці).

Локалізація в підкіркових структурах мозку ускладнювала лікування та ставила під сумнів успішний прогноз через настороженість щодо післяпроменевої реакції, набряку та можливого радіонекрозу. Однак через три місяці було досягнуто повну відповідь, пухлина редукувалась. Пацієнтка жива. Безрецидивний період становив 19 місяців.

Швидка відповідь на радіохірургічне лікування гліобластоми дикого типу (порівняно з пухлинами мутантного типу), можливо зумовлена більшою тропністю до радіосенсибілізаторів більш агресивних та гіпоксичних пухлин. Важливим моментом динамічного МРТ спостереження, як з точки зору ранньої (швидкої) відповіді на радіохірургічне лікування, так і з точки зору предикторів успішності лікування гліобластом, була оцінка показників проміжної гіпоксії за даними коефіцієнта вимірювання дифузії (ADC) (табл. 3.13).

Таблиця 3.13.

Динаміка показників ADC у зоні проміжної гіпоксії гліобластоми до та після радіосенсибілізації МТН та НМР

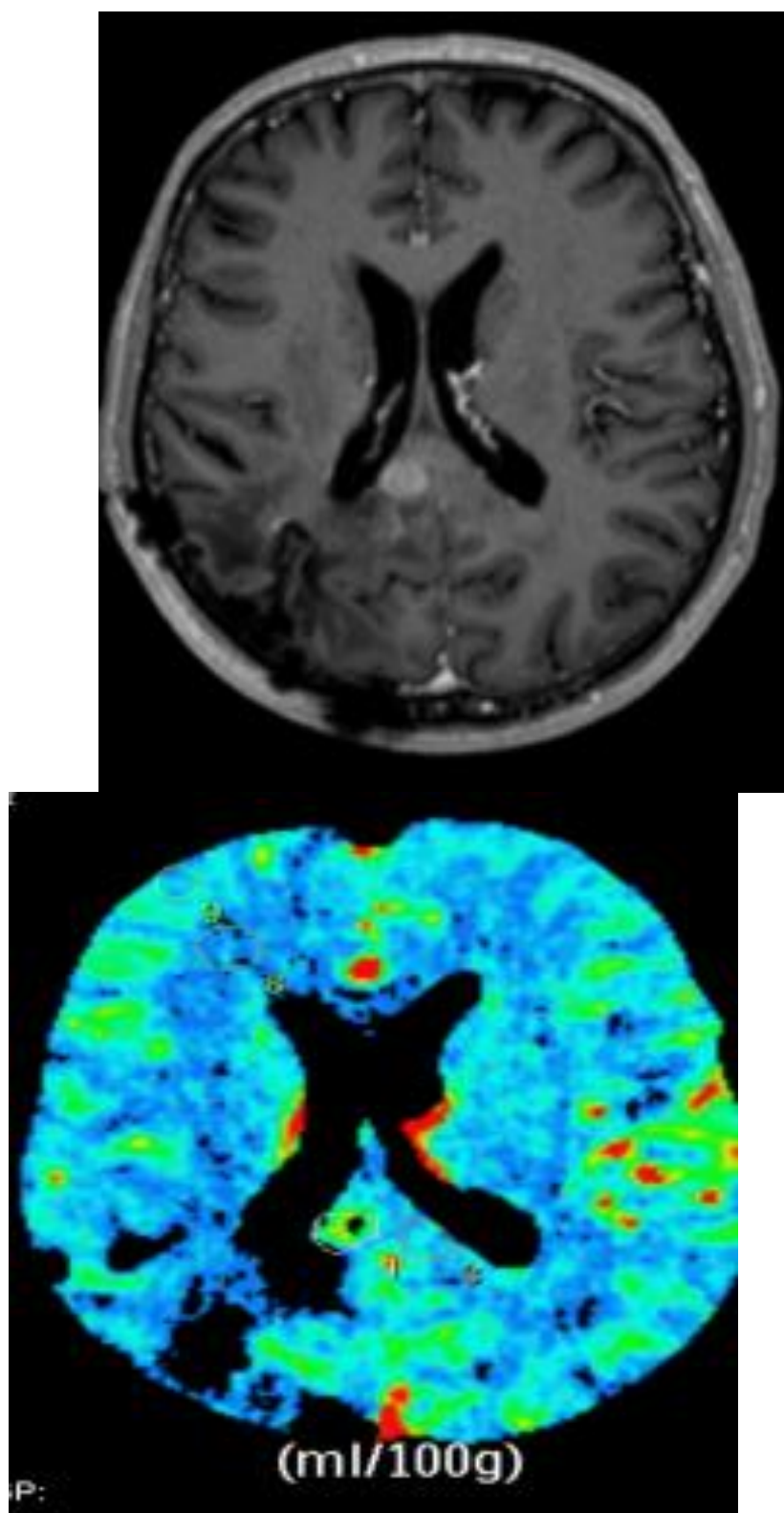
ADC (10^{-3} мм ² /с)			
Термін спостереження	Регрес вогнища (n=13)	Стабільні вогнища (n=5)	Прогресування захворювання (n=2)
Перед прийомом МТН або НМР	1,02±0,06-	1,02±0,06-	1,02±0,06-
	1,14±0,04	1,14±0,04	1,14±0,04
Після прийому МТН	1,18±0,08-	1,06±0,05-	1,02±0,05-
	1,26±0,06	1,16±0,02	1,12±0,02
Після прийому НМР	1,22±0,02-	1,08±0,06-	1,04±0,04-
	1,28±0,08	1,18±0,05	1,14±0,08

Примітка: *достовірна відмінність у порівнянні з вихідними показниками в групах складає ($p < 0,05$, χ^2 test).

За результатами нашої роботи визначено, що ADC у зоні гіпоксії становить $0,6-0,8 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$; у зоні проміжної гіпоксії - $1,0-1,1 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$, активного пухлинного росту - $1,2-1,5 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$; некрозу - $1,8-2,5 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$.

Ми визначили, що проміжна гіпоксія за даними ADC після СРХ підвищується до значень: від $1,18 \pm 0,08 - 1,26 \pm 0,06 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$, до $1,22 \pm 0,02 - 1,28 \pm 0,08 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$, що може бути предиктором відповіді на радіохірургічне лікування, тобто прогностичним фактором.

За стабільної відповіді ці показники практично не змінювалися. І навпаки підвищувалися під час прогресування захворювання. Цей показник може бути цінним діагностичним чинником. Ознаки локального рецидиву в основній групі визначалися протягом 12 місяців у 5 пацієнтів (7,5%). У всіх випадках повторно було проведено СРХ (рис. 3.16).



А

Б

Рис. 3.16. Хвора 51 рік. Повторна СРХ. Стан після видалення ГБМ і проведення СРХ. Локальний рецидив через 12 місяців. (А) на МРТ T133 - вогнище пухлинного рецидиву у медіальній стінці правого бокового шлуночка.

(Б) КТ-перфузія (зображення об'єму кровотока) також демонструє вогнище рецидиву гліобластоми.

В даному випадку була проведена СРХ за одну фракцію із радіосенсибілізацією і супутньою хіміотерапією. РОД на 2,2 см³ об'єму вогнища рецидиву пухлини становила 18 Гр. Проведення повторної стереотаксичної радіохірургії на вогнище рецидиву є найбільш ефективним методом лікування і практично безальтернативним. Опромінення всього мозку малоефективне при ГБМ та некоректно при невеликому одиничному осередковому ураженні і загрожує важкими когнітивними порушеннями. Тоді як СРХ дає швидкий ефект без побічних реакцій. В даному випадку ми разово використовували як радіосенсибілізацію німоразол. Через 6 місяців пухлинне вогнище повністю редукувалося (рис. 3.17).

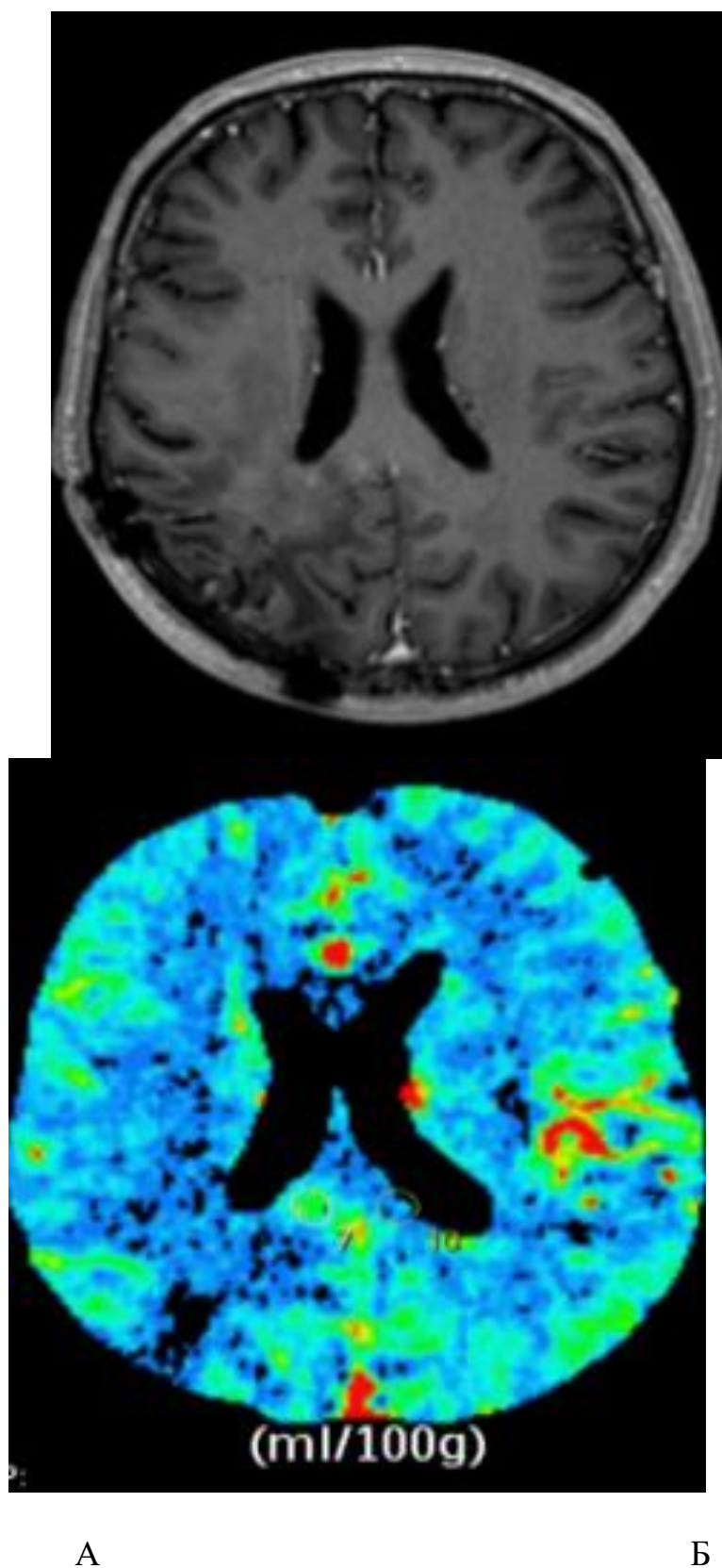


Рис. 3.17. Та ж хвора. Стан після СРХ рецидиву ГБМ через 6 місяців. (А) МРТ T133 з контрастуванням. (Б) КТ-перфузія (показники ОМК та ШМК). Осередок не візуалізується в програмі T133 після контрастування, показники

об'єму і швидкості кровотоку низькі - гіперфузія. Подальший безрецидивний період - 11 місяців.

Ознаки локального рецидиву у контрольній групі визначалися протягом 12 місяців у 8 пацієнтів (20.0%). У 4 випадках була повторно проведена СРХ, у 2 – хірургічна резекція, та у 2 – опромінення всього головного мозку.

Таким чином, показник середнього загального виживання (СЗВ) становив у основній групі $28,7 \pm 1,6$ місяців (95%DI:25,5-31,9), у контрольній: $11,3 \pm 0,63$ місяців (95%DI:10,1-12,6) $\chi^2=45,9$ ($p<0,0001$). (рис. 3.18).

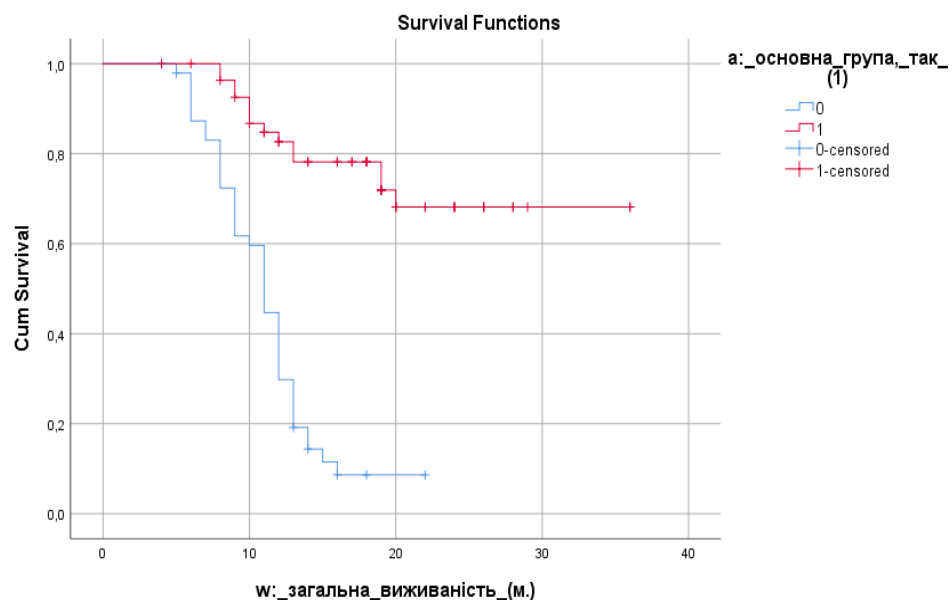


Рис. 3.18. Загальне виживання в основній та контрольній групах.

Середнє безрецидивне виживання (СБВ) в цілому становило в основній групі $20,4 \pm 1,0$ місяців (95%DI:18,3-22,4), в контрольній $8,3 \pm 0,4$ місяців (95%DI:7,4-9,2) $\chi^2=49,3$ ($p<0,0001$) (рис. 3.19).

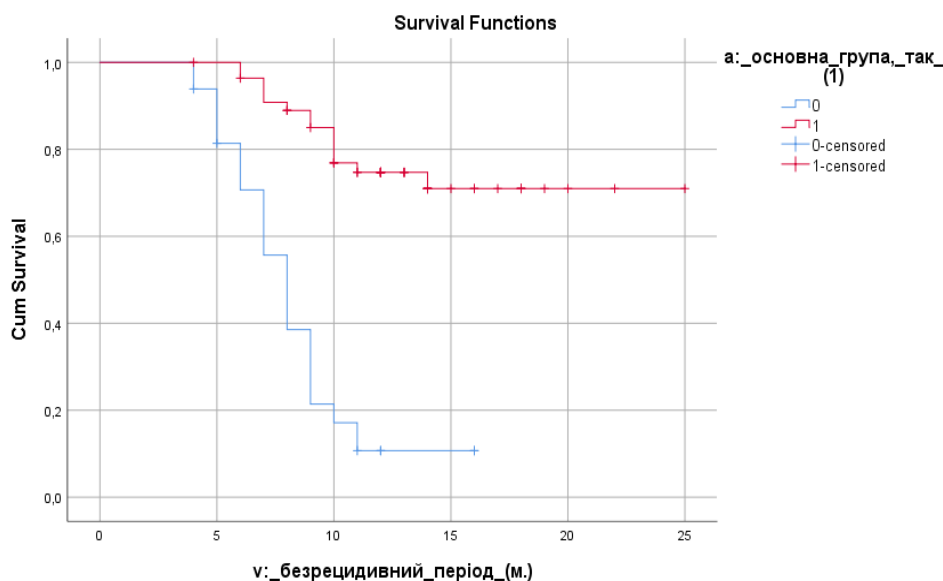


Рис. 3.19. Безрецидивне виживання в основній та контрольній групах.

СЗВ в групі з метронідазолом становила 21,7 місяців проти 10,9 місяців у групі без радіосенсибілізації, в групі з німоразолом 28,9 місяців проти 10,9 місяців у контрольній групі, СБВ в групі з метронідазолом становила 17,5 місяців проти 7,9 місяців контрольної групи, в групі з німоразолом 20,3 місяців проти 7,9 місяців.

Крім того, статистично значущими були показники призначеної радіохірургічної дози та об'єму пухлини.

Так СЗВ при дозі >17 Гр становила в основній групі 31,7 місяців проти 11,3 місяців в контрольній, при дозі <17 Гр – 15,8 місяців в основній групі проти 10,9 місяців у контрольній групі ($p < 0,0001$), СБВ при дозі >17 Гр становила в основній групі 22,3 місяців проти 8,5 місяців у контрольній і СБВ при дозі <17 Гр – 11,4 місяців в основній групі та 7,5 місяців у контрольній ($p < 0,0001$). СЗВ при об'ємі пухлини <2,9см³ становила 22,9 місяців в основній групі проти 15,2 місяців у контрольній групі, а при об'ємі пухлини >2,9см³ ($p < 0,0001$) - 21,8+2,2 місяця, і в контрольній групі – 10,3+0,6 місяців. СБВ при об'ємі <2,9см³ становила 20,8 місяців в основній групі проти 8,5 місяців в контрольній групі при обсязі >2,9см³ ($p < 0,0001$).

Достовірним показником кращого виживання були дані коефіцієнта дифузії (ADC) протягом першого тижня після СРХ, збільшення яких було предиктором ефективності лікування та показало результати середнього загального виживання 25,3 місяців проти 11,7 місяців, коли показники ADC не збільшувалися ($p < 0,0001$), СБВ становило 20,7 місяців проти 9 місяців ($p < 0,0001$).

Важливими, хоч і не статистично значущими, були дані ступеня оксигенації та реоксигенації у програмі MPT BOLD, які корелювали з показниками середнього загального виживання: 28,7 місяців, проти 10,9 місяців при незначній оксигенації ($p < 0,022$), та СБВ 19,7 місяців проти 10 місяців ($p < 0,033$).

Показники статистичного аналізу (за методом Kaplan-Meier) доводять, що запропонований метод лікування демонструє достовірно значущі відмінності безрецидивного та загального виживання при радіохірургії гліобластом у пацієнтів з радіосенсибілізацією метронідазолом і німоразолом (основна група) та контрольної груп без радіосенсибілізації.

Таким чином, радіосенсибілізація при проведенні СРХ гіпоксичних радіорезистентних гліобластом, покращує на 53,3% показники загального та на 24,8% безрецидивного виживання в порівнянні з контрольною групою, а німоразол та метронідазол являються потужними радіосенсибілізаторами, які підвищують радіочутливість пухлинних клітин, шляхом збільшення кисневої насиченості гіпоксичних клітин. Для визначення показань щодо проведення СРХ з радіосенсибілізацією та термінів проведення сеансу СРХ, ми обов'язково повинні враховувати результат MPT (ADC та BOLD), та кисневої проби (ступень насиченості пухлини киснем), пік інтенсивності сигналу в зоні проміжної гіпоксії пухлини та пік насиченості всього об'єму пухлини.

3.3. Радіохірургічне лікування рецидивних мультифокальних гліобластом з використанням кисню, як радіосенсибілізатора

38 пацієнтам (середній вік 50 років), 20 чоловікам (52,6%), та 18 жінкам (47,3%) з діагнозом рецидивна мультиформна гліобластома була проведена СРХ (середня доза 17 Гр та середній об'єм ділянки опромінення 12,2 см³) за одну або

кілька фракцій (3-5). У 20 пацієнтів пухлина була видалена тотально або субтотально, у 18 - частково. 26 пацієнтам проводили СРХ з радіосенсибілізацією 95% киснем, під час МРТ проводили «кисневу пробу» перед сеансом радіохірургії (O²+СРХ) за допомогою пристрою оксигенатора «Оху 6000». 12 пацієнтам проводили СРХ без радіосенсибілізації (Р-). (табл. 3.14).

Таблиця 3.14.

Характеристика хворих

Характеристика	Значення
Вік (роки):	
Медіана	50
Діапазон	28-84
Стать (ж)	
Чоловіки	20
Жінки	18
Статус Карновського:	
Медіана	70
Загальний об'єм пухлин (см ³):	
Медіана	12,2
Діапазон	8,0-84,0
Призначена доза (Гр):	
Медіана (діапазон) СРХ за одну фракцію	17,0 (12-24)
СРХ за 3-5 фракцій	35,0 (20-45)
Пухлина видалена тотально або субтотально	20 (52,6%)
Пухлина видалена частково	18 (47,3%)
СРХ з РС киснем (СРХ + O ₂)	26 (68,42%)
СРХ без радіосенсибілізації (Р-)	12 (31,57%)

У пацієнтів, які отримали СРХ з використанням радіосенсибілізації киснем (основна група), медіана загальної виживаності (МЗВ) склала 20 місяців порівняно з тими, хто отримав СРХ без РС (контрольна група) – 12 місяців, а безрецидивна виживаність (БВ) в основній групі склала 15 місяців, проти 8 місяців у контрольній ($p = 0,004$; $X^2 = 8,166$).

Радіохірургічні дози вище 17 Гр корелювали із середньою медіаною виживання 18 місяців у порівнянні з 9 місяцями у тих, хто лікувався в дозах <17 Гр. Радіохірургічні дози менше 17 Гр (в основній групі), корелювали із МЗВ 15 місяців, у порівнянні з 9 місяцями у контрольній групі ($p = 0,02$; $X^2 = 6,644$). Об'єм пухлини також корелював з МЗВ, при об'ємі пухлини менш ніж 29 см^3 , в основній групі МЗВ склала 20 місяців, а в контрольній - 12 місяців, об'єм пухлини (в основній групі) більш ніж 29 см^3 корелював із МЗВ 18 місяців, проти 10 місяців у контрольній групі ($p = 0,006$; $X^2 = 6,002$).

Позитивна "киснева" проба під час проведення МРТ до сеансу радіохірургії, демонструвала виражений ступень оксигенації у програмі BOLD. Інтенсивне насичення киснем гіпоксичної тканини пухлини давало на МРТ підвищений, яскраво-інтенсивний сигнал, підтверджувало з одного боку покази для проведення радіосенсибілізації, з іншого боку, було предиктором успішності радіохірургічного лікування гліобластоми (рис. 3.23).

Динамічне проведення МРТ після хірургічного видалення мГБМ (кожні 3 місяці) дозволяло своєчасно виявляти ділянки рецидиву пухлини та проводити точне, субміліметрове радіохірургічне лікування пухлини. Динаміку позитивної відповіді пухлини на лікування ми оцінювали за зменшенням об'єму пухлини протягом перших чотирьох тижнів, не менше 15% об'єму за перший тиждень і не менше 35% об'єму пухлини за перші 4 тижні.

Найбільш сприятливий результат СРХ ми спостерігали після тотального чи субтотального видалення пухлини (рис. 3.24).

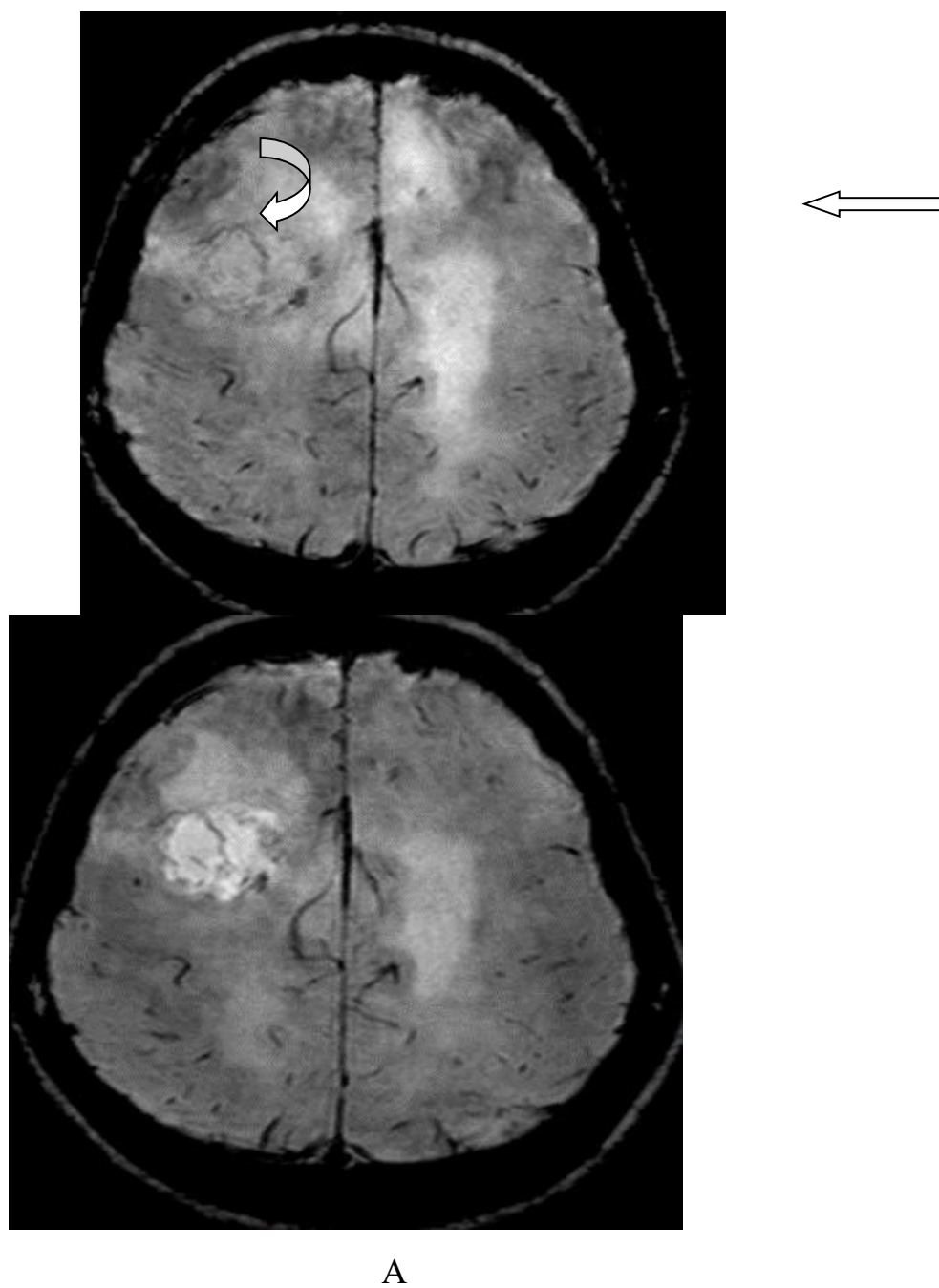


Рис. 3.23. Приклади реоксигенації ГБМ після введення інфузії суміші 95% кисню. МРТ в програмі BOLD (А) до введення кисню (біла крива стрілка), та (Б) після, через 30 хвилин (біла пряма стрілка). МР-сигнал від пухлини у правій задньо-лобно-тім'яній ділянці, парасагітально, після введення кисню, різко посилюється, контури пухлини (гліобластоми) стали чіткими (біла пряма стрілка), що допомогло визначити тактику радіохірургічного лікування.

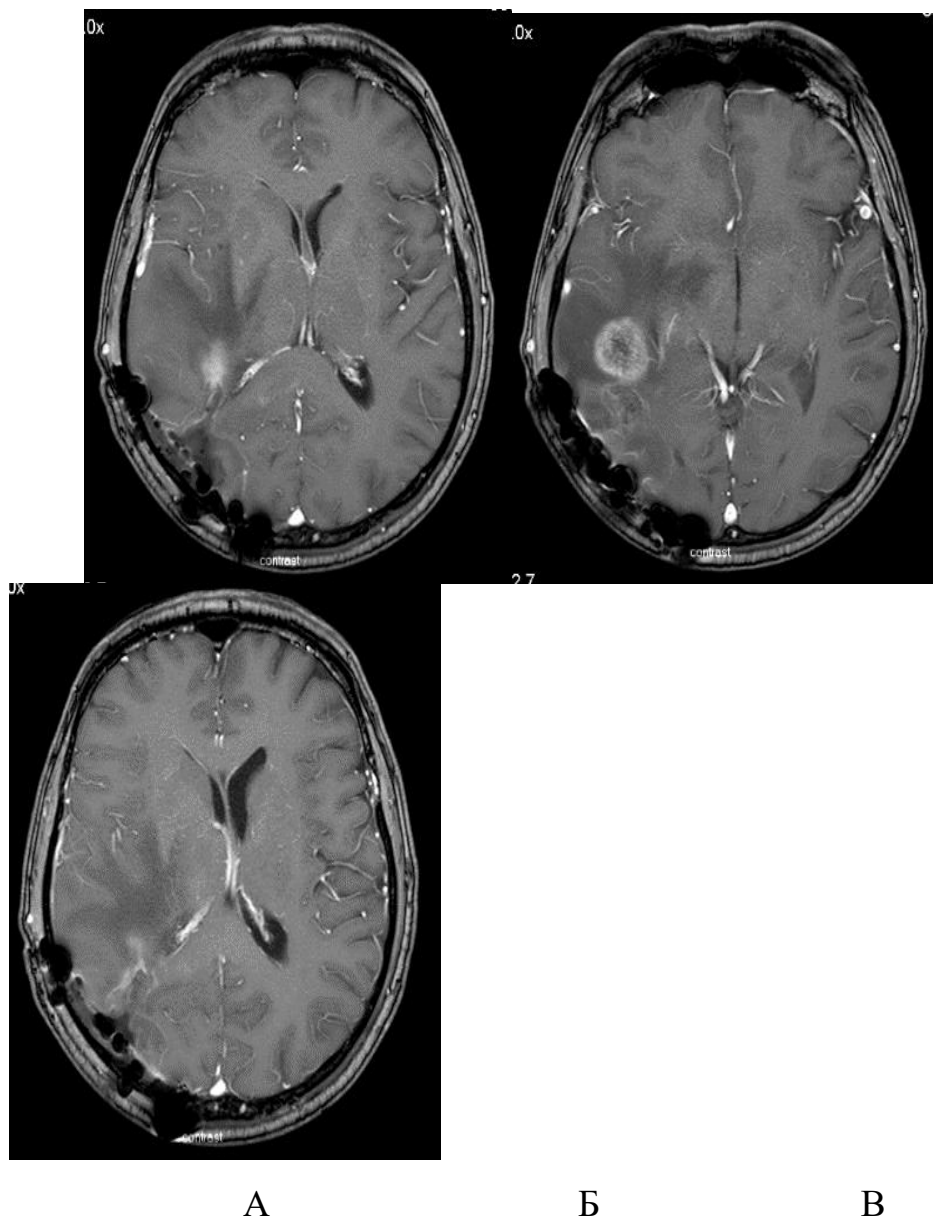
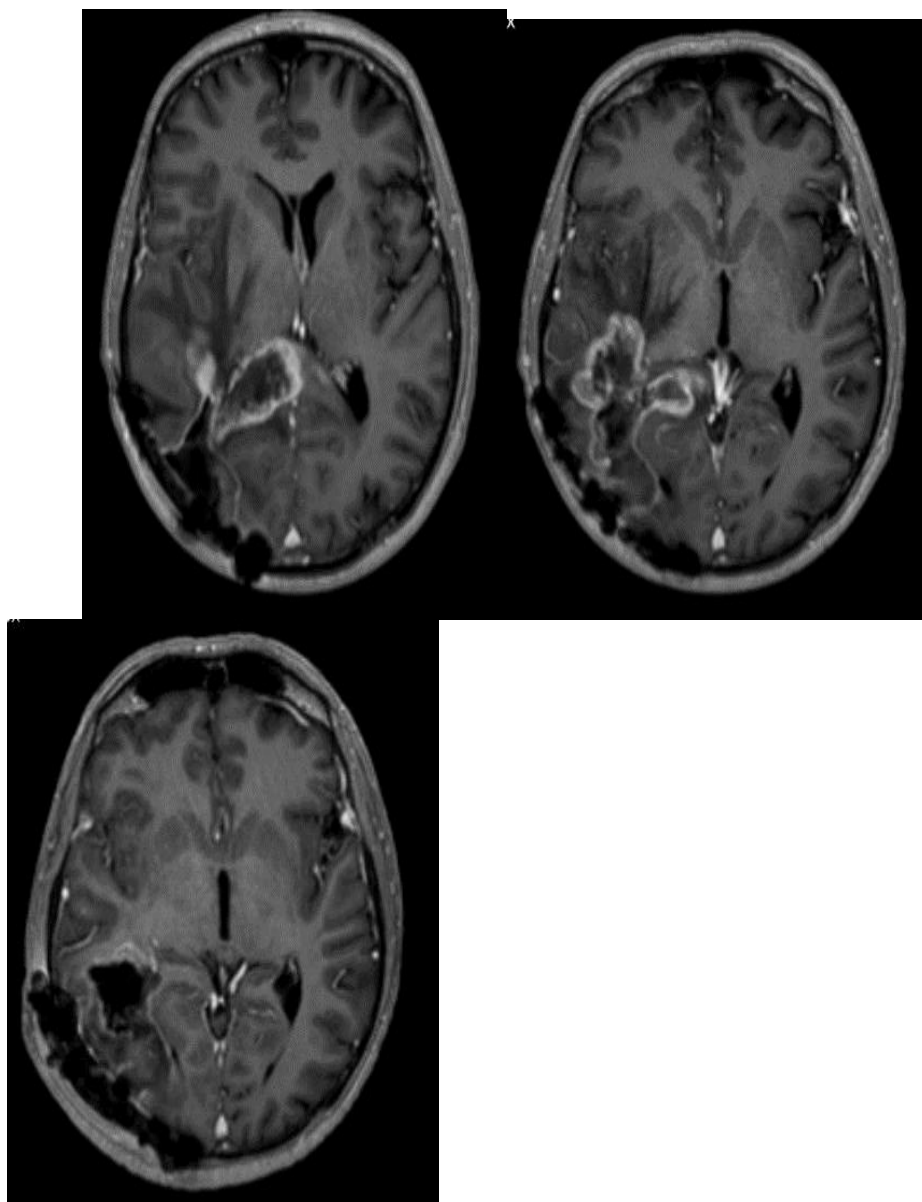


Рис. 3.24. Пацієнт 64 роки. У хворого була субтотально видалена гліобластома. Проведено курс хіміорадіотерапії. Через 14 місяців, за даними МРТ, виявлено рецидив ГБМ (мультифокальний відсів пухлини). (А) МРТ після хірургічної субтотальної резекції. (Б) Рецидив ГБМ (одне з вогнищ мультифокального відсіву у правій задньо-скронево-нижньо-тім'яній ділянці). Проведено радіохірургію з радіосенсибілізацією за допомогою кисню. (В) Повна відповідь на радіохірургічне лікування через 6 місяців. Безрецидивний період після СРХ склав 16 місяців, загальне виживання - 28 місяців.

Після часткового видалення мГБМ, рецидив спостерігався раніше, ніж після тотального або субтотального видалення пухлини і це відбивалося і на загальному виживанні пацієнтів, але СРХ була ефективна і в цих випадках (рис. 3.25).



А

Б

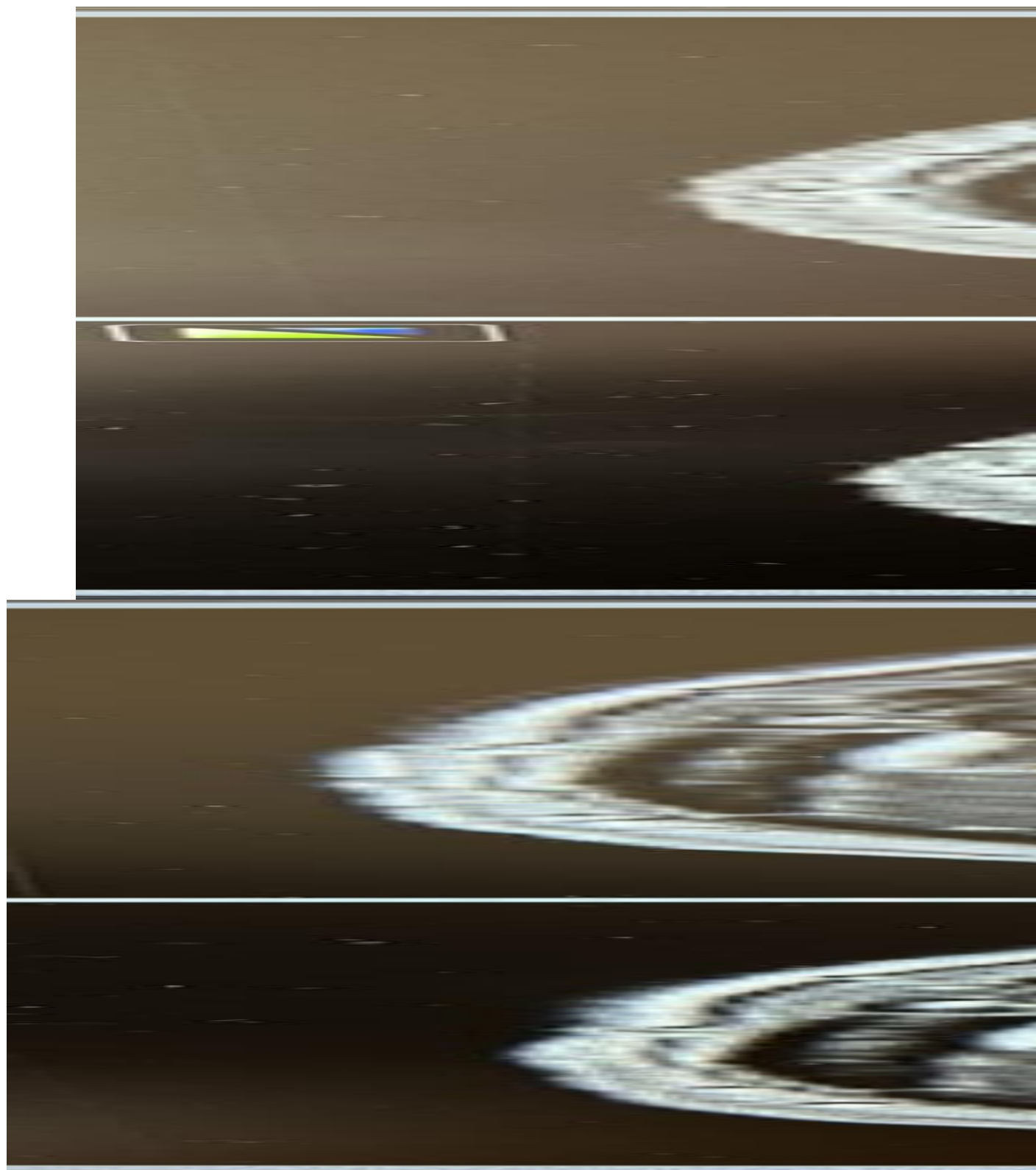
В

Рис. 3.25. Пацієнт 58 років. У хворого була частково видалена мультифокальна гліобластома. Проведено курс хіміорадіотерапії. Через 8 місяців після первинного лікування, за даними МРТ, виявлено рецидив ГБМ. (А) МРТ після хірургічної часткової резекції. (Б) Рецидив ГБМ. (В) Часткова відповідь на радіохірургічне лікування через 8 місяців.

У вищеописаному випадку, після часткового видалення мультифокальної гліобластоми, резидуальна частина пухлини збільшилася в розмірі і знадобилося з урахуванням великих розмірів (до 40,4 см³) проведення радіохірургії у 5 фракцій (по 6,5 Гр за фракцію). СРХ проведена з використанням кисню, який підводився

через оксигенатор і проводилося насичення киснем протягом 30 хвилин (з концентрацією O_2 не менше 95-96%). У процесі СРХ проводили радіомодифікацію темозоламідом. Після СРХ були проведені курси хіміотерапії темозоламідом. Через 8 місяців пухлина частково регресувала. Безрецидивний період після СРХ склав 12 місяців, загальне виживання - 22 місяці.

Мультифокальна гліобластома в 5 випадках рецидивувала не тільки в місці операції, а й віддалено в інших відділах мозку (рис. 3.26).



А

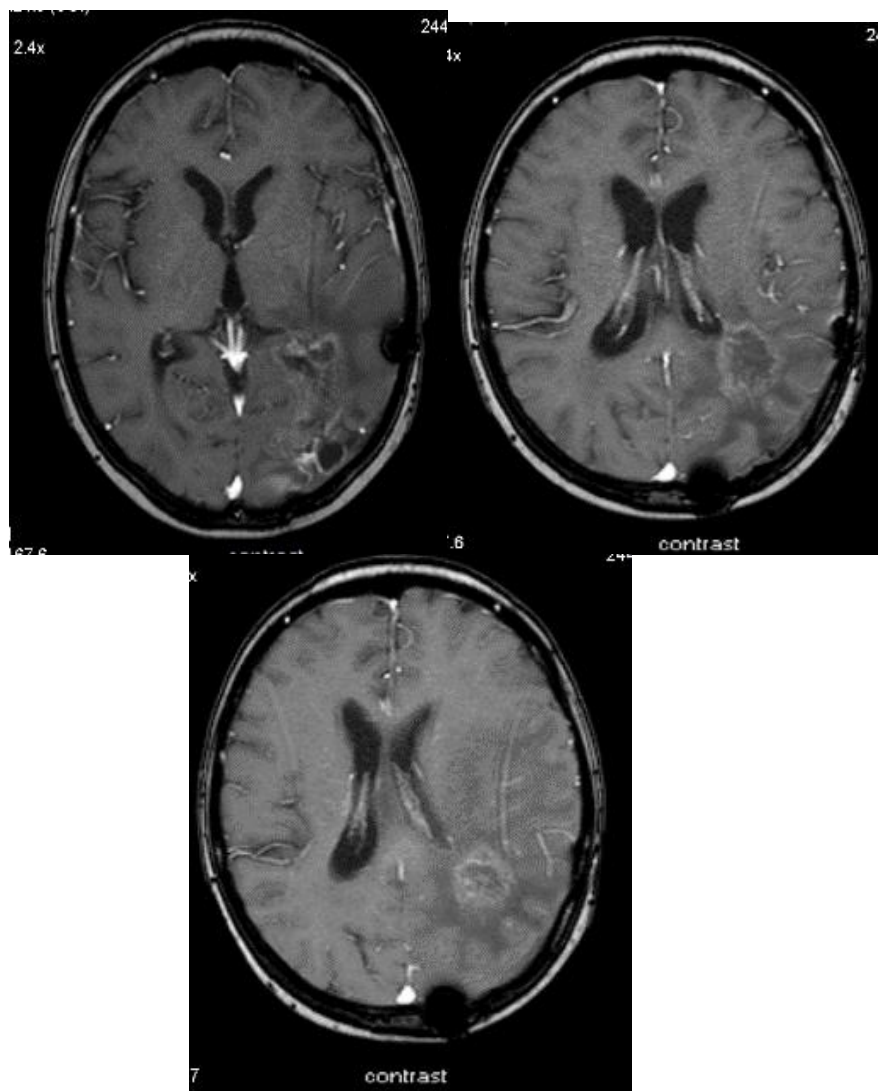
Б

Рис. 3.26. Мультифокальна гліобластома лівої задньо-скроневої ділянки (ліворуч) з осередком відсіву в правій скроневої частці (праворуч). (А) МРТ зліва до СРХ (верхня картинка) та після СРХ, через місяць (нижня). Зменшення об'єму

пухлини на 44,2%. (Б) Осередок відсіву праворуч, МРТ до СРХ (верхня картинка) і після СРХ (нижня картинка). Повна регресія вогнища.

На МРТ ліворуч по периферії пухлини визначається значне підвищення сигналу внаслідок проведення оксигенації O_2 перед сеансом СРХ, яке вказує на наявність зони гіпоксії в пухлині. Проведення СРХ з інфузією O_2 викликало швидкий регрес пухлини.

Використання радіосенсибілізації підвищило радіочутливість пухлин та дало прийнятні результати лікування. Протягом тижня було отримано ранню відповідь на СРХ з радіосенсибілізацією (рис. 3.27).



А

Б

В

Рис. 3.27. Рецидив мультифокальної гліобластоми лівої тім'яно-потиличної ділянки. СРХ з радіосенсибілізацією. (А) МРТ після операції. (Б) Рецидив за даними T133. (В) Зменшення розмірів осередку рецидиву мГБМ через 2 місяці після СРХ+O₂.

Особливостями гліобластоми є радіорезистентність, тому ми намагалися, дотримуючись показників толерантності мозкових структур, підвести максимальну дозу на пухлинне вогнище. При великих розмірах вогнищ мГБМ ми проводили лікування за кілька фракцій. Максимально проводили СРХ за 5 фракцій (рис. 3.28).

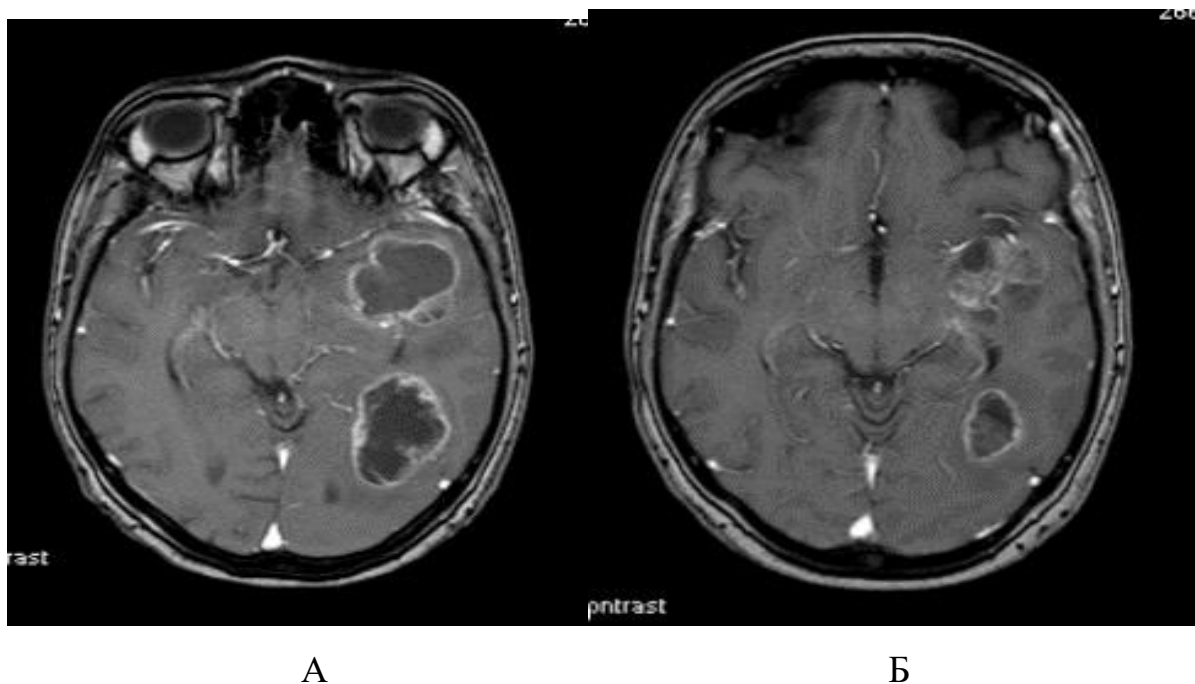


Рис. 3.28. Рецидив мультифокальної гліобластоми лівої скроневої ділянки. СРХ з радіосенсибілізацією. (А) МРТ до СРХ. (Б) МРТ після СРХ+O₂ у 5 фракцій по 8 Гр. Зменшення розмірів осередку рецидиву мГБМ через місяць на 68,6%.

Кисень продемонстрував себе як ефективний радіосенсибілізатор при неоперабельних гліобластомах з мультифокальним ростом. Крім того, відсоток післяпроменевих радіаційних явищ після СРХ становив 12,6%, а у хворих, з радіосенсибілізатором, цей показник склав лише 6,7%.

Серед достовірних факторів, які за даними Карпан-Меєр позитивно вплинули на показники середнього загального виживання (СЗВ) була доза радіохірургічного лікування. Так, при дозі >17 Гр в основний групі, СЗВ склало 22,9 місяців, при дозі < 17Гр лише 10,9 місяців, $X^2=49,6(p<0,0001)$ (рис. 3.29).

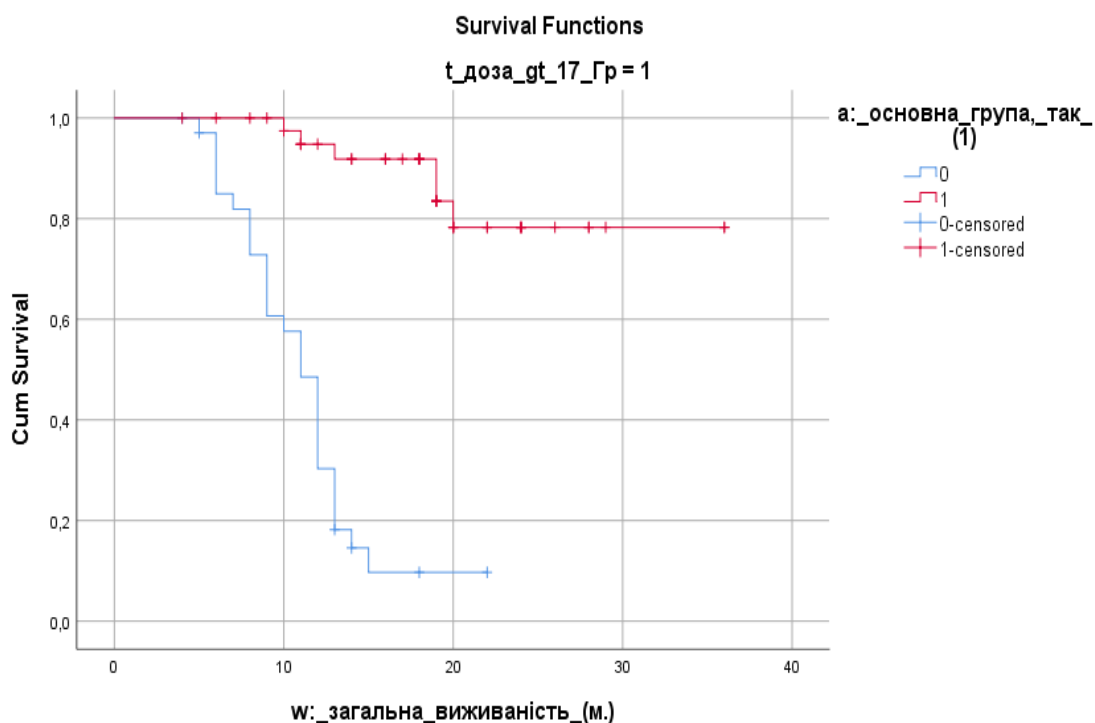


Рис. 3.29. Медіана СЗВ в основній і контрольній групах з дозою лікування більше 17 Гр.

Також достовірним фактором в основній та контрольній групах, що впливали на СЗВ, став об'єм пухлини, що опромінювався. Так, СЗВ при об'ємі пухлини менше ніж $2,9 \text{ см}^3$, в основній групі склала 22,9 місяців, а в групі більше ніж $2,9 \text{ см}^3$, лише 15,2 місяців, $X^2=49,6$ ($p<0,0001$).

Крім того предиктором ефективності радіохірургічного лікування виявилися показники BOLD оксигенації, а СЗВ, хоч і не була статистично значуща, становила у основній групі 27,6 місяців, а в контрольній групі - лише 12,1 місяців, $X^2=5,20$ ($p<0,022$) (рис. 3.30).

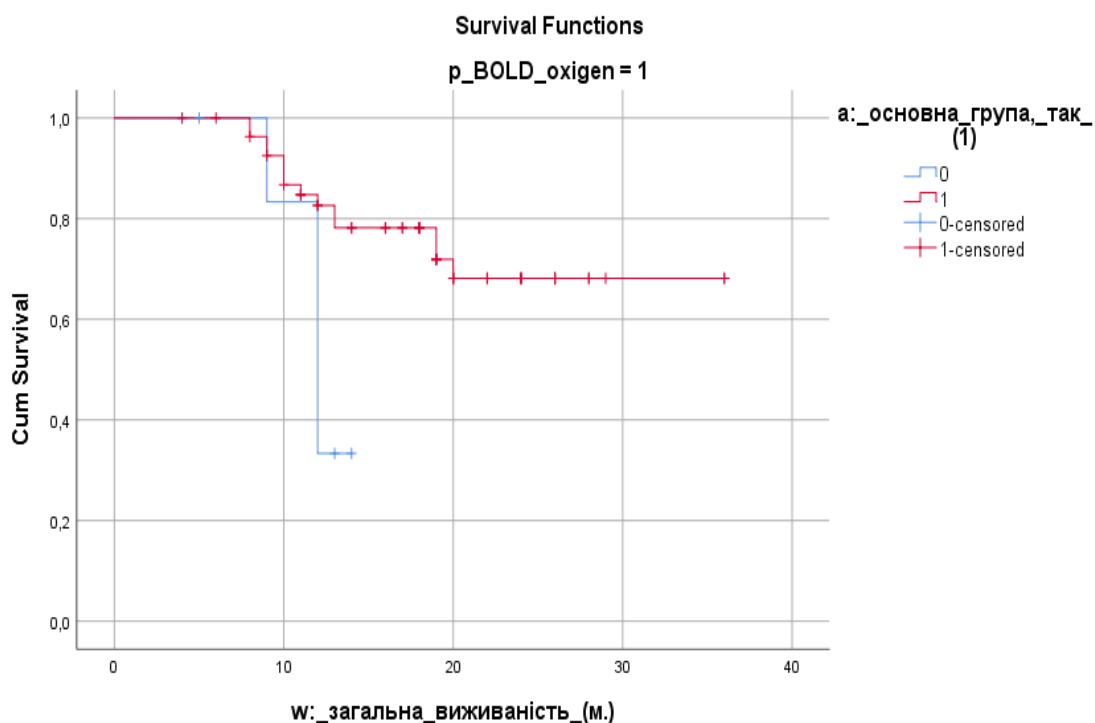


Рис. 3.30. Загальна виживаність в основній і контрольній групах з урахуванням показників BOLD оксигенації.

Ефективність лікування з радіосенсибілізацією в цілому підтверджували дані СЗВ; середнє загальне виживання становило в основній групі $20,8 \pm 1,3$ місяці (95% DI: 18,3-23,4), в контрольній: $11,0 \pm 0,63$ місяці (95% DI: 10,0-12,5) $X^2=42,0$ ($p < 0,0001$), а дані безрецидивного виживання в основній та контрольній групах, склали відповідно 18,9 і 8,3 місяців, $X^2=49,3$ ($p < 0,0001$) (рис. 3.31, 3.32).

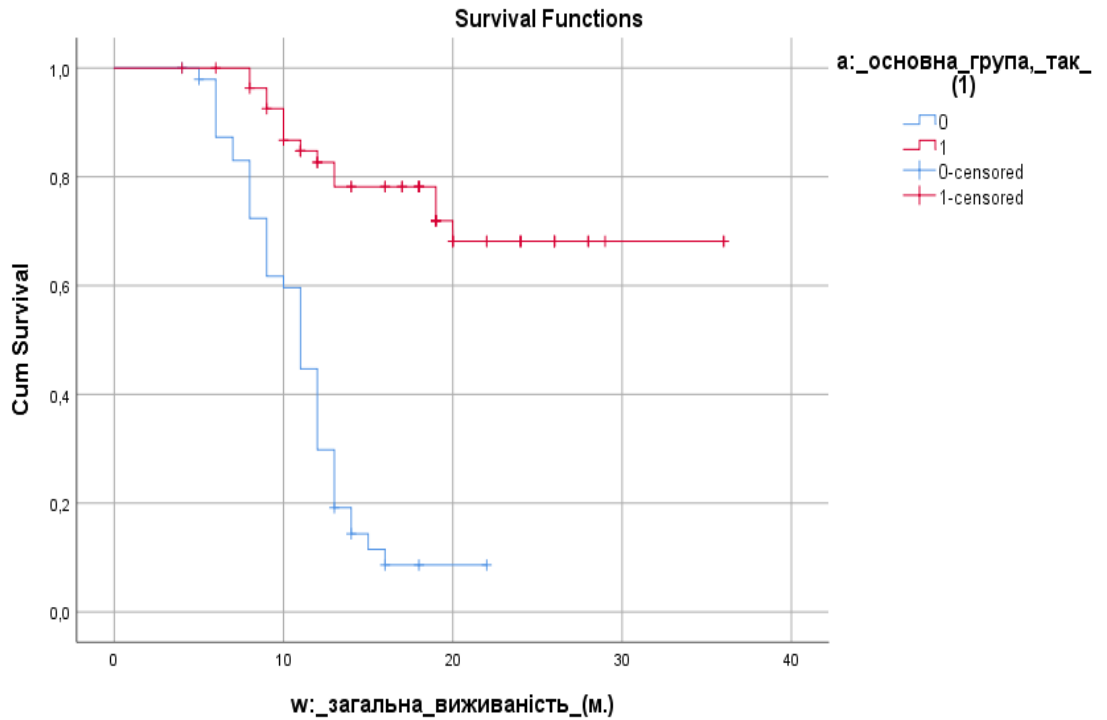


Рис. 3.31. СЗВ в основній і контрольній групах.

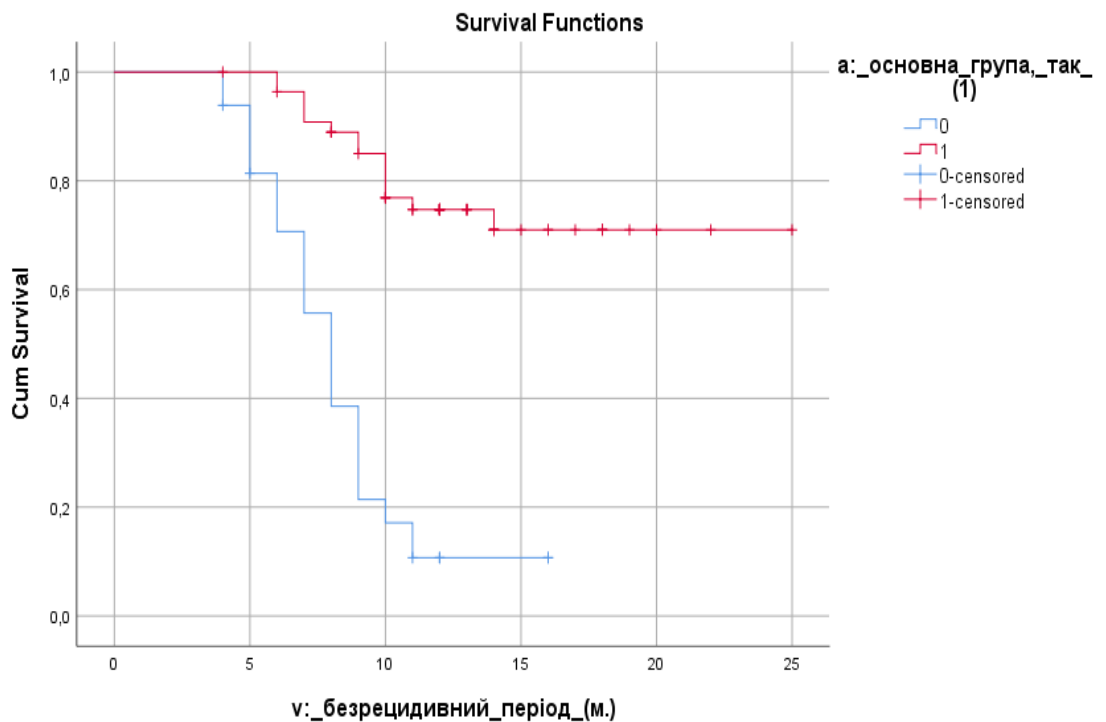


Рис. 3.32. СБВ в основній і контрольній групах.

Таким чином, проведення стереотаксичної радіохірургії на вогнище рецидиву мультиформної гліобластоми є найбільш ефективним методом

лікування і практично безальтернативним, так як опромінення всього мозку малоефективне при мГБМ та некоректно при невеликому одиничному осередковому ураженні і загрожує когнітивними порушеннями.

Радіосенсибілізація киснем при проведенні СРХ гіпоксичних радіорезистентних гліобластом, покращує на 60,0% показники загального та на 53,3% безрецидивного виживання в порівнянні з контрольною групою, а кисень є потужним радіосенсибілізатором, який значно підвищує радіочутливість пухлинних клітин, шляхом збільшення їх кисневої насиченості.

Матеріали розділу висвітлені в публікаціях

1. Gryazov A.B. Hypofractionated Radiosurgery in glioblastom / A.B. Gryazov, A.A. Gryazov. Sciences of Europe. 2018; 34-1: 16-24.
1. Грязов А.А., Грязов А.Б. Сопоставление динамически чувствительной магнитно-резонансной томографической перфузии и неинвазивной артериальной спинмаркировки в диагностике степени злокачественности глиом. Український радіологічний журнал. 2018; 26(2): 74-79.
2. Грязов А.А, Лисяний М.І, Грязов А.Б. Особливості імунного статусу у хворих з метастатичними та гліальними пухлинами головного мозку на підготовчому етапі променевого лікування.//Український радіологічний та онкологічний журнал. 2020; 28(4): 353–363.
<https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2020.353-363>
3. Грязов Андрій Б., Главацький Олександр, Земскова Оксана. Виживаність після радіохірургічного лікування рецидивних гліобластом у хворих із радикальною резекцією первинної пухлини//Грязов Андрій Б., Главацький Олександр, Земскова Оксана, Грязов Андрій А., Чувашова Ольга, Хмельницький Геннадій, Шуба Ірина, Кручок Ірина, Шевельов Максим, Стулей Володимир. Ukrainian scientific medical youth journal. 2022, Issue 1 (128). <http://mmj.nmuofficial.com> 72.

РОЗДІЛ 4

ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНЕ РАДІОХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ ГЛІОБЛАСТОМИ

4.1. Біохімічні показники прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми з урахуванням молекулярно-генетичної структури пухлини

MGMT є одним із ферментів системи репарації ДНК. Він видаляє метильні та хлоретильні групи з O₆- позиції гуаніну, нейтралізуючи цитотоксичний ефект алкілюючих агентів. В нормальних клітинах глії ген MGMT експресується на високому рівні. Зниження рівня експресії фермента, за рахунок метилювання промотора гена, спостерігається тільки в клітинах пухлин, збільшує цитотоксичність алкілюючих агентів вибірково по відношенню до клітин пухлин. Хоча важливість визначення мутацій IDH1/2 та метилювання MGMT загально визнана, залишається незрозумілим, вони надають незалежну інформацію як біомаркери, чи таку, що перекривається [4, 19, 20, 24, 56, 68, 69, 70, 71].

PTEN (phosphatase and tensin homolog) – білок, що кодується геном PTEN, бере участь в регуляції клітинного циклу, є пухлинним супресором, функціонує як фосфатаза. Головна функція PTEN – пригнічення сигнального шляху, контрольованого фосфоінозитол-3-кіназою – одного з основних шляхів, відповідальних за проліферацію та виживання клітин. Мутації в гені PTEN призводять до розвитку пухлин, що виявляється в багатьох новоутвореннях. Білок, який кодується цим геном, є фосфатиділінозитол-3,4,5-трифосфат-3-фосфатазою, містить тензин-подібний домен (каталітична частка) і є білковою тирозиною фосфатазою. На відміну від інших білкових тирозинових фосфатаз, цей білок переважно дефосфорилує фосфоінозитидні субстрати, знижує внутрішньоклітинний рівень фосфатиділінозитол-3,4,5-трифосфату (PIP₃), що в результаті пригнічує сигнальний шлях PI3K /Akt.

Білок PTEN містить фосфатазний домен і C2-домен: фосфатазний домен містить активний сайт зв'язування, який і здійснює ферментативну функцію білка, C2-домен здійснює прикріплення до фосфоліпідної мембрани. PTEN

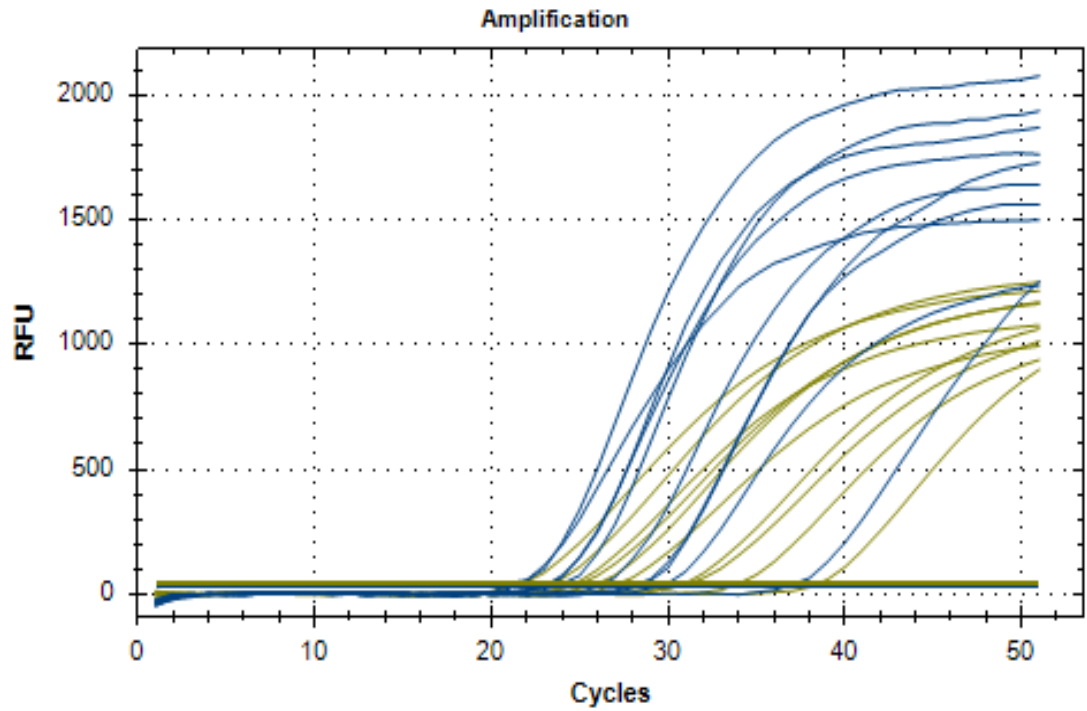
взаємодіє з мембрано-пов'язаним РІРЗ та дефосфорилує його. РТЕН є частиною сигнального шляху, який зупиняє ділення клітин та індукує апоптоз, що запобігає неконтрольованому росту клітин та прогресуванню онкологічного процесу [21, 58, 65, 66, 81].

4.2. Методика молекулярно-генетичних досліджень

Отримано фрагменти тканин пухлин від пацієнтів контрольної (n = 10) та досліджуваної групи (n = 12). Досліджувана група - це група пацієнтів, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення. Ця група складалась з випадків первинної та рецидивної гліобластоми. Матеріал для дослідження отримували з фрагментів тканини пухлин головного мозку, вилучених під час хірургічного втручання. Тканина пухлин відразу після вилучення в стерильних умовах оброблялась наступним чином – видаляли фрагменти судин та некротизовані фрагменти, очищену тканину поміщали у стерильні кріопробірки та зберігали у рідкому азоті при температурі – 196°C до моменту використання в експерименті.

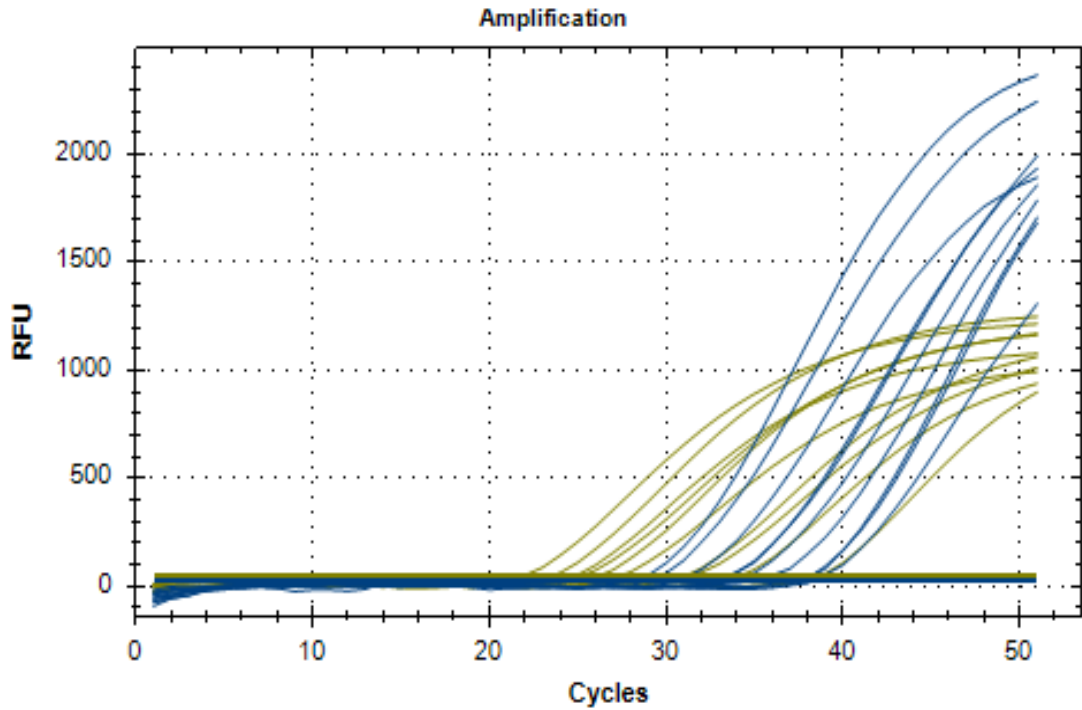
Підібрані та відпрацьовані оптимальні умови для проведення ПЛР у реальному часі для визначення експресії генів MGMT та РТЕН. В якості референтного гена було обрано ген глюкуронідази GUSB (Hs00939627_m1), який належить до сімейства так званих “housekeeping genes”, для якого характерний стабільний рівень експресії серед різних зразків. Припускають, що зміна кількості його кДНК залежить лише від впливу додаткових факторів, що визначають кінетику зворотньої транскрипції. Це дозволяє порівнювати рівень експресії генів між різними зразками .

На рис. 4.1 та рис. 4.2 подано графіки ампліфікації фрагментів генів MGMT, РТЕН та GUSB у зразках контрольної групи.



A01	FAM	MGMT	Unkn	9	25,91
A02	FAM	MGMT	Unkn	1	27,71
B01	FAM	MGMT	Unkn	10	29,21
B02	FAM	MGMT	Unkn	2	22,86
C02	FAM	MGMT	Unkn	3	21,21
D02	FAM	MGMT	Unkn	4	23,42
E02	FAM	MGMT	Unkn	5	28,09
F02	FAM	MGMT	Unkn	6	36,56
G02	FAM	MGMT	Unkn	7	20,57
H02	FAM	MGMT	Unkn	8	22,85
A03	VIC	GUSB	Unkn	1	31,04
A04	VIC	GUSB	Unkn	9	31,27
B03	VIC	GUSB	Unkn	2	26,10
B04	VIC	GUSB	Unkn	10	34,08
C03	VIC	GUSB	Unkn	3	23,43
D03	VIC	GUSB	Unkn	4	25,12
E03	VIC	GUSB	Unkn	5	27,28
F03	VIC	GUSB	Unkn	6	38,57
G03	VIC	GUSB	Unkn	7	21,76
H03	VIC	GUSB	Unkn	8	24,74

Рис. 4.1 Графіки ампліфікації фрагментів генів MGMT та GUSB у зразках контрольної групи GUSB - флуорофор VIC; MGMT – флуорофор FAM ; RFU - рівень флуоресценції



A0	FAM	PTEN	Unkn	9	35,02
A10	FAM	PTEN	Unkn	1	38,35
B09	FAM	PTEN	Unkn	10	33,05
B10	FAM	PTEN	Unkn	2	37,78
C10	FAM	PTEN	Unkn	3	29,05
D10	FAM	PTEN	Unkn	4	28,24
E10	FAM	PTEN	Unkn	5	30,68
F10	FAM	PTEN	Unkn	6	37,51
G10	FAM	PTEN	Unkn	7	33,91
H10	FAM	PTEN	Unkn	8	33,04
A03	VIC	GUSB	Unkn	1	31,04
A04	VIC	GUSB	Unkn	9	31,27
B03	VIC	GUSB	Unkn	2	26,10
B04	VIC	GUSB	Unkn	10	34,08
C03	VIC	GUSB	Unkn	3	23,43

D03	VIC	GUSB	Unkn	4	25,12
E03	VIC	GUSB	Unkn	5	27,28
F03	VIC	GUSB	Unkn	6	38,57
G03	VIC	GUSB	Unkn	7	21,76
H03	VIC	GUSB	Unkn	8	24,74

Рис. 4.2 Графіки ампліфікації фрагментів генів PTEN та GUSB у зразках контрольної групи.

GUSB - флуорофор VIC; MGMT – флуорофор FAM; RFU - рівень флуоресценції.

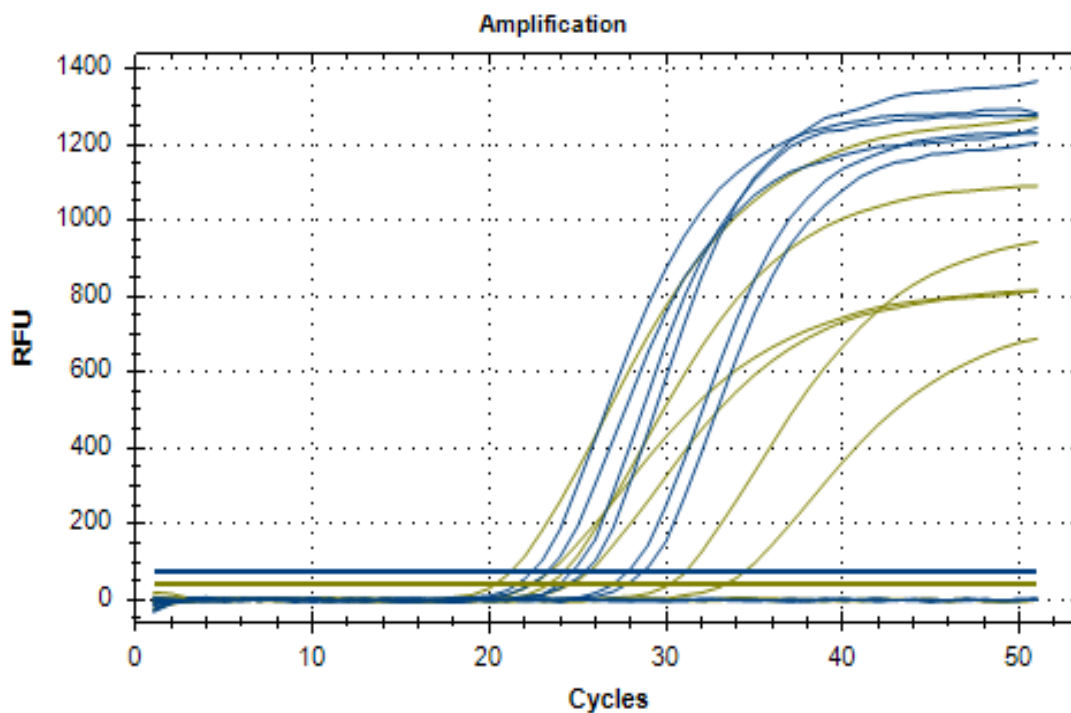
В таблиці 4.1. представлені нормалізовані показники експресії генів MGMT та PTEN, визначення мутації R132H (G395A) в тканині фрагментів гліобластоми у пацієнтів, вилученої під час хірургічного лікування, що не отримували передопераційного стереотаксичного опромінення.

Таблиця 4.1.

Експресія генів MGMT та PTEN, визначення мутації R132H (G395A) в тканині фрагментів гліобластоми у пацієнтів, що не отримували передопераційне стереотаксичне опромінення

	Нормалізований показник експресії MGMT/GUSB (у. о.)	Нормалізований показник експресії PTEN/GUSB (у. о.)
Контрольна група (без передопераційної СРХ)	0, 55 – 51, 39 M = 12, 96 σ = 0, 83	0. 00 – 2, 18 M = 0, 53 σ = 0, 001

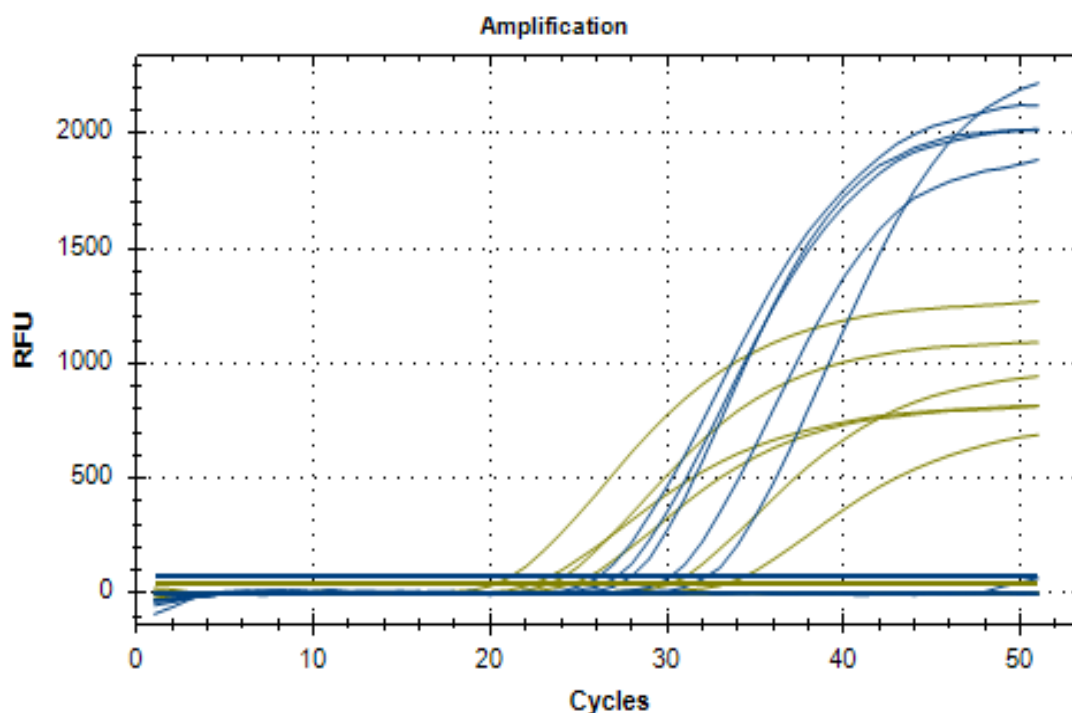
На рис. 4.3 та рис. 4.4 подано графіки ампліфікації фрагментів генів MGMT, PTEN та GUSB у зразках групи пацієнтів, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення.



A01	FAM	MGMT	Unkn	9	N/A
A02	FAM	MGMT	Unkn	1	27,78
B01	FAM	MGMT	Unkn	10	N/A
B02	FAM	MGMT	Unkn	2	24,63
C02	FAM	MGMT	Unkn	3	22,36
D02	FAM	MGMT	Unkn	4	25,34
E02	FAM	MGMT	Unkn	5	23,24
F02	FAM	MGMT	Unkn	6	28,64
G02	FAM	MGMT	Unkn	7	N/A
H02	FAM	MGMT	Unkn	8	N/A
A03	VIC	GUSB	Unkn	1	30,11
A04	VIC	GUSB	Unkn	9	N/A
B03	VIC	GUSB	Unkn	2	23,25
B04	VIC	GUSB	Unkn	10	N/A
C03	VIC	GUSB	Unkn	3	20,25
D03	VIC	GUSB	Unkn	4	24,47

E03	VIC	GUSB	Unkn	5	22,29
F03	VIC	GUSB	Unkn	6	33,24
G03	VIC	GUSB	Unkn	7	N/A
H03	VIC	GUSB	Unkn	8	N/A

Рис. 4.3. Графіки ампліфікації фрагментів генів MGMT та GUSB у зразках групи пацієнтів, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення. GUSB - флуорофор VIC; MGMT – флуорофор FAM; RFU - рівень флуоресценції.



A09	FAM	PTEN	Unkn	9	N/A
A10	FAM	PTEN	Unkn	1	N/A
B09	FAM	PTEN	Unkn	10	N/A
B10	FAM	PTEN	Unkn	2	32,23
C10	FAM	PTEN	Unkn	3	27,99
D10	FAM	PTEN	Unkn	4	26,15
E10	FAM	PTEN	Unkn	5	27,16
F10	FAM	PTEN	Unkn	6	30,20
G10	FAM	PTEN	Unkn	7	N/A
H10	FAM	PTEN	Unkn	8	N/A
A03	VIC	GUSB	Unkn	1	30,11

A04	VIC	GUSB	Unkn	9	N/A
B03	VIC	GUSB	Unkn	2	23,25
B04	VIC	GUSB	Unkn	10	N/A
C03	VIC	GUSB	Unkn	3	20,25
D03	VIC	GUSB	Unkn	4	24,47
E03	VIC	GUSB	Unkn	5	22,29
F03	VIC	GUSB	Unkn	6	33,24
G03	VIC	GUSB	Unkn	7	N/A
H03	VIC	GUSB	Unkn	8	N/A

Рис. 4.4. Графіки ампліфікації фрагментів генів PTEN та GUSB у зразках групи пацієнтів, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення. GUSB; MGMT – флуорофор FAM; RFU - рівень флуоресценції.

Нормалізовані показники експресії генів MGMT та PTEN, наявність мутації R132H (G395A) IDH1 в тканині гліобластоми у пацієнтів, вилученої під час хірургічного лікування, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення подані в таблиці 4.2

Таблиця 4.2.

Експресія генів MGMT та PTEN, визначення мутації R132H (G395A) в

тканині фрагментів гліобластоми у пацієнтів з передопераційним стереотаксичним опроміненням

	Нормалізований показник експресії MGMT/GUSB (у.о.)	Нормалізований показник експресії PTEN/GUSB (у.о.)
Досліджувана група (отримували передопераційну СРХ)	0,00 – 29,40 M = 2,44 σ = 6,03	0,00 – 9,34 M = 1,07 σ = 2,07

Встановлено достовірне зниження рівня експресії гену MGMT в тканині пухлини при передопераційному стереотаксичному опроміненні. Розрахунок значення рангового U- критерію Манна – Уїтні показав статистично значущі

відмінності між групою контролю та експериментальною групою у разі визначення показника експресії гену MGMT ($p \leq 0.01$). Низький рівень нормалізованого показника експресії гену MGMT може мати позитивний прогноз для подальшого лікування.

Виявлено відносно високий рівень нормалізованого показника експресії гену MGMT у середині групи пацієнтів, що отримували при лікуванні передопераційне стереотаксичне опромінення. Це стосується пухлин суб/супратенторіальних відділів головного мозку, при біфокальному ураженні головного мозку мультифокальною гліобластою (0,89 у.о.), у випадку гліобластоми стовбура мозку (2,68 у.о.), де було проведено курс СРХ (4 фракції) (0,93 у.о.), та гліобластоми підкіркових структур (4,64 у.о.).

У випадку ураження гліобластою задньої-черепної ямки рівень нормалізованого показника експресії гену MGMT перевищив значення такого в групі контролю і становив 29,40 у.о. Такі значення експресії гену MGMT є прогностично негативним фактором для призначення хіміотерапії.

PTEN є потужним супресором пухлин, і втрата його функції часто спостерігається як у спадкових, так і спорадичних ракових захворюваннях. PTEN має фосфатазозалежну та фосфатазоне залежну (скелет) активність у клітині та керує різними біологічними процесами, включаючи підтримку геномної стабільності, виживання клітин, міграцію, проліферацію та метаболізм. Навіть незначне зниження рівня та активності PTEN призводить до сприйнятливості до раку та сприяє прогресуванню пухлини. Тому регуляція PTEN стала предметом інтенсивних досліджень у біології пухлин. Недавні відкриття, включаючи існування різних ізоформ PTEN і здатність PTEN утворювати димери, виявили нові способи функціонування та регуляції PTEN. Ці важливі відкриття, у свою чергу, відкрили нові терапевтичні шляхи для профілактики та лікування гліобластоми шляхом відновлення активності PTEN-супресора пухлин [21].

Зважаючи на те, що головна функція PTEN - це пригнічення сигнального шляху, контрольованого фосфоінозитол-3-кіназою – одного з основних шляхів, відповідальних за проліферацію та виживання клітин, було проведено

дослідження нормалізованої експресії гену PTEN. Показано, що зниження експресії PTEN є негативним прогностичним маркером виживання пацієнтів з гліобластомою, а також маркером відповіді на специфічну терапію [58].

Встановлено підвищення рівня експресії гену PTEN у тканині пухлини головного мозку при передопераційному стереотаксичному опроміненні. Розрахунок значення рангового U- критерію Манна – Уїтні показав, що статистично значущих відмінностей між групою контролю та експериментальною групою в разі визначення показника експресії гену PTEN немає.

Виявлено відносно високий рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN у середині групи пацієнтів, що отримували при лікуванні передопераційне стереотаксичне опромінення. Це стосується випадку пухлини правої скроне-підкоркової ділянки (2,20 у.о.), у лівій тім'яній частці (2,07 у.о.), гліобластоми лобно-кальозної ділянки (1,07 у.о.), мультифокального рецидиву правої гемісфери великого мозку та потовщення мозолистого тіла (2,38 у.о.). У випадку ураження гліобластомою задньої-черепної ямки рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN перевищив значення такого в групі контролю і становив 9,34 у.о. Такі значення експресії гену PTEN є прогностично позитивним фактором для призначення хіміотерапії.

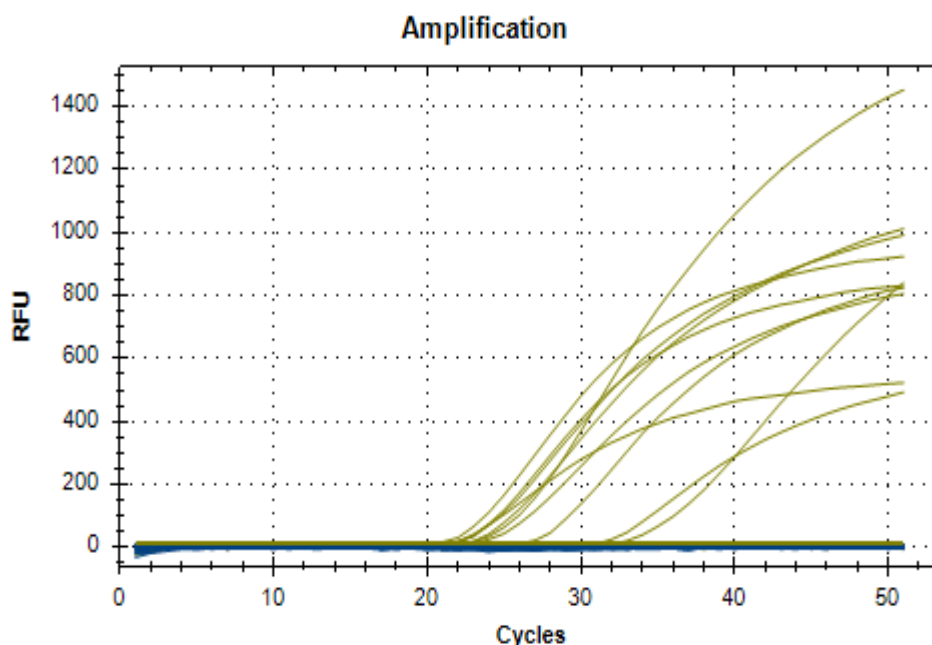
У когорті хворих, при лікуванні яких застосовували передопераційне опромінення, нами встановлено підвищення рівня нормалізованого показника експресії гену PTEN. А саме: у випадку пухлини у правій скроневої ділянці (0,29 у.о.), мультифокальної гліобластоми суб/супратенторіальних відділів головного мозку (0,31 у.о.), біфокальному ураженні головного мозку (0,22 у.о.), рецидивної гліобластоми хробака зліва (0,35 у.о.) та гліобластоми лівої потиличної ділянки (0,18 у.о.).

Низький рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN (0,01у.о.) встановлено у випадку рецидивної гліобластоми суб/супратенторіальної локалізації з ростом у мозолисте тіло і це може мати негативне прогностичне значення при подальшому лікуванні.

Мутації в генах ізоцитратдегідрогеназ 1 та 2 (IDH1 та IDH2) відіграють суттєву роль у гліомогенезі, а також визначають діагностику та вибір терапії пацієнтів. Соматичні мутації в генах IDH1 та IDH2, які визначаються в гліомах та деяких інших пухлинах, являють собою гетерозиготні міссенс-мутації у каталітичному домені ферментів. Мутації призводять до втрати нормальної функціональної активності ферментів (утворення α -кетоглутарату) та набувають нову функцію.

Нами були проведені дослідження по виявленню мутацій IDH1 в зразках гліобластоми у двох когортах пацієнтів.

На рис. 4.5 подано графік мутації в генах IDH1 у зразках групи пацієнтів, що не отримували передопераційне стереотаксичне опромінення.



A11	FAM	IDH1-M	Unkn	6	N/A
B02	FAM	IDH1-M	Unkn	2	N/A
B11	FAM	IDH1-M	Unkn	7	N/A
C02	FAM	IDH1-M	Unkn	3	N/A
C10	FAM	IDH1-M	Unkn	1	N/A
C11	FAM	IDH1-M	Unkn	8	N/A
D02	FAM	IDH1-M	Unkn	4	N/A
D11	FAM	IDH1-M	Unkn	9	N/A

E02	FAM	IDH1-M	Unkn	5	N/A
E11	FAM	IDH1-M	Unkn	10	N/A
A02	VIC	IDH1-N	Unkn	1	26,18
A11	VIC	IDH1-N	Unkn	6	31,15
B02	VIC	IDH1-N	Unkn	2	21,59
B11	VIC	IDH1-N	Unkn	7	22,54
C02	VIC	IDH1-N	Unkn	3	23,06
C10	VIC	IDH1-N	Unkn	1	N/A
C11	VIC	IDH1-N	Unkn	8	22,46
D02	VIC	IDH1-N	Unkn	4	20,54
D11	VIC	IDH1-N	Unkn	9	21,34
E02	VIC	IDH1-N	Unkn	5	21,48
E11	VIC	IDH1-N	Unkn	10	32,35

Рис. 4.5. Графіки мутації в генах IDH1 у зразках групи пацієнтів, що не отримували передопераційне стереотаксичне опромінення. Алель дикого типу G - флуорофор VIC; Мінорний алель A – флуорофор FAM; RFU - рівень флуоресценції.

У контрольній групі у всіх пацієнтів (не отримували передопераційного опромінення перед хірургічним втручанням) виявлено дикий тип (GG) гену IDH1.

У когорті пацієнтів, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення, при проведеному нами дослідженні визначення мутації R132H (G395A), в тканині фрагментів пухлин мозку у 11 з них встановлено дикий тип (GG) гену IDH1 і лише 1 зразок має мутацію R132H (G395A) (рис.4.6).

Алельна дискримінація для SNP типування

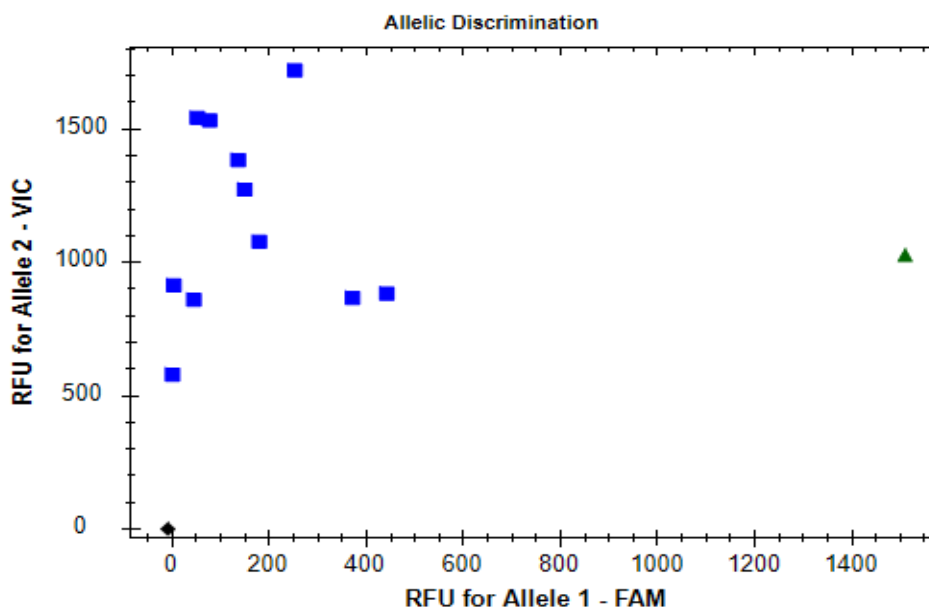


Рис. 4.6. Трикластерний графік алельної дискримінації для SNP типування rs 121913500 (ген IDH1). \blacklozenge - негативний контроль; \blacksquare - гомозиготи ТТ; \blacktriangle - гетерозиготи СТ. Мутація R132H (G395A) встановлена в тканині при гліобластомі лівої скроневої ділянки.

Гетерозиготні мутації IDH1 порушують спорідненість ферменту до субстратного комплексу Mg^{2+} -ізоцитрату та ферментативну активність, мутантні ферменти IDH1 мають не тільки (i) втрату функції ферменту перетворювати ізоцитрат в альфа-КГ, але також (ii) посилення функції ферменту для каталізації NADPH-залежного відновлення альфа-КГ до R(-)-2 гідроксиглутарату (2HG). В результаті R(-)-2HG помітно підвищений в ракових тканинах з мутацією IDH, і цей «онкометаболіт» може сприяти онкогенезу гліом.

IDH1 може захищати клітини від окислювального стресу шляхом виробництва NADPH, який є відновним еквівалентом для відновлення глутатіону та антиоксидантної системи тіоредоксину. Крім того, α -кетоглутарат, будучи кофактором кількох діоксигеназ, може брати участь у регуляції багатьох біологічних процесів. Мутації IDH1 та IDH2 призводять до зниження активності

ферменту та до зменшення виробництва як NADPH, так і α -кетоглутарату, що свідчить про те, що захисні механізми клітин будуть змінені, а клітини з мутаціями IDH будуть більш вразливими до окисного стресу. Оскільки іонізуюче випромінювання провокує різке підвищення концентрації активних форм кисню, можна припустити, що пухлинні клітини, що містять мутації IDH, можуть мати підвищену чутливість до променевої терапії порівняно з клітинами IDH дикого типу.

4.3. Імунологічні показники прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми

Дослідження останніх двох десятиліть показали, що запальні імунні клітини є важливими учасниками запалення, пов'язаного зі злоякісними пухлинами мозку. Зусилля були зосереджені на розумінні того, як імунні клітини впливають на долю пухлини на різних стадіях захворювання: рання неопластична трансформація, клінічно виявлені пухлини, мультифокальне поширення і терапевтичне втручання [65].

Цікавим є можливість дослідження впливу на імунну систему різних методів лікування, наприклад променевої терапії. Крім прямого впливу випромінювання на ракові клітини, ПТ може викликати модифікації в локальному мікросередовищі, які можуть вплинути на розвиток пухлини. Більшість пухлинних клітин не експресують головний комплекс гістосумісності (МНС) класу II. Як наслідок, вони не можуть безпосередньо активувати специфічний пухлинний імунітет, опосередкований CD4 + Т-клітинами, який необхідний для розвитку адаптивних імунних відповідей. Пухлинні клітини розвивають множинні і складні механізми захисту щоб повністю уникнути імунного нагляду. Ці клітини можуть продукувати імуносупресивні цитокіни і залучати інгібуючі і регуляторні типи клітин, знижувати експресію антигенів, втрачати експресію молекул МНС класу I, мати аберантний процесинг антигену, викликати анергію або делецію Т-клітин і викликати дисфункцію дендритних клітин (ДК). Взаємодія всіх цих

факторів може сприяти «невидимості» ракових клітин для імунної системи [66, 127].

Пов'язані з пухлиною похідні антигени (ТАА), що вивільняються на периферію пухлини, можуть захоплюватися дендритними клітинами. Далі ДК стають активними завдяки розпізнаванню toll-подібних рецепторів (TLR), при якому ідентифікуються ендogenousні сигнали небезпеки, що направляються вмираючими пухлинними клітинами. Активація ДК характеризується підвищенням активності молекул клітинної поверхні, що беруть участь в презентації антигену і костимуляції (наприклад, CD80, CD86), і вивільненням прозапальних цитокінів. Таким чином, активовані ДК мігрують у вторинні лімфоїдні органи, де ТАА будуть представлені CD4 + Th-клітинам в контексті МНС-II. Активні ефекторні Т-клітини можуть рециркулювати в організмі і викликати пухлино специфічну імунну відповідь у віддалених областях. За допомогою цього механізму адаптивні імунні відповіді можуть сприяти елімінації метастазів пухлин, що не експресують МНС-II. CD4 + Т-клітини можуть допомогти вбити пухлинні клітини за допомогою декількох механізмів. Одним з них є забезпечення розвитку пухлино специфічних CD8 + Т-клітин, які розпізнають пухлинні пептиди за допомогою МНС-I. CD4 + Т-клітини, особливо Th1-клітини, секретують інтерферон (IFN) - γ , який індукує експресію МНС-I в пухлинних клітинах [132, 134, 135].

IFN- γ може також взаємодіяти для контролю росту пухлини через пригнічення ангиогенезу. Крім того, після ПТ в пухлинах збільшується продукція IFN- γ , що, в свою чергу, збільшує експресію МНС-I. Незважаючи на центральну роль CD4 + Т-клітин в протипухлинному адаптивному імунітеті, екзогенні антигени, такі як ТАА, можуть бути представлені дендритними клітинами за допомогою перехресного праймінга до CD8 + Т-клітин в контексті МНС-I; цей процес може відбуватися без допомоги попередніх CD4 + Т-клітин. Це підтвердило б гіпотезу про те, що опромінення може підвищувати імуногенність пухлини, сприяючи перехресному праймінгу і стимулюючи ефекторну фазу протипухлинної імунної відповіді. Крім того, ПТ може індукувати секрецію

широкого спектра цитокінів та інших медіаторів пухлинними клітинами-мішенями і оточуючими клітинами (такими як ендотеліальні клітини стромы пухлини і інфільтруючі пухлинні клітини).

Таким чином, імунологічні показники є важливим фактором прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми.

4.4 Особливості імунного статусу

Дослідження імунного статусу у хворих на пухлини головного мозку (гліобластоми) при порівнянні з вторинними пухлинами, виявило зміни в різних ланках імунної системи. Так, при порівнянні абсолютної кількості окремих субпопуляцій лімфоцитів виявлено дисбаланс в складі CD-3,4,8 Т-лімфоцитів та 19 В-лімфоцитів, а саме в порівнянні з групою неонкологічних хворих було встановлено підвищення вказаного рівня субпопуляцій Т-лімфоцитів, зниження рівня CD-19 лімфоцитів у периферичній крові. При порівнянні імунних показників у хворих з первинними злоякісними пухлинами мозку – гліобластомами та анапластичними астроцитомами, з вторинними метастатичними пухлинами, було встановлено незначні відмінності в кількості Т та В субпопуляцій лімфоцитів, а саме, виявлено, що при гліобластомах був найвищий рівень CD-4 та CD-8 лімфоцитів, в порівнянні з іншими групами пухлин, хоча статистичної вірогідної відмінності між цими показниками не виявлено.

Вміст різних субпопуляцій лімфоцитів у крові хворих з метастатичними пухлинами та неопластичними астроцитомами III ступеня анаплазії був практично однаковий, що свідчить як про імунологічну подібність онкологічного процесу в організмі незалежно від локалізації пухлин, наприклад, головного мозку чи в молочній залозі. Дещо окремо виділяються показники вмісту CD-16 натуральних кілерних клітин. Так, при метастатичних пухлинах та при анапластичних астроцитомах виявлено зниження рівня CD-16 клітин в крові, тоді як при гліобластомах мало місце в 1,4 - 1,5 рази підвищення кількості CD-16 лімфоцитів в порівнянні з анапластичними астроцитомами. Аналогічні зміни в

показаннях імунної системи виявляються не лише у визначенні абсолютної кількості певних субпопуляцій лімфоцитів, а й при відносному (відсотковому) рівні лімфоцитів, який теж підтверджує наявність змін в залежності від характеру пухлинного процесу, а саме первинних чи метастатичних пухлин. В той же час при порівнянні відсоткового та абсолютного вмісту певних субпопуляцій лімфоцитів можна відмітити, що визначення абсолютного вмісту імунних клітин в крові більш наглядно ілюструє стан імунної системи ніж відсотковий її рівень, але для повноти уявлень про особливості порушень в імунній системі необхідно проводити визначення як абсолютного, так і відсоткового рівня певних субпопуляцій лімфоцитів у периферичній крові.

При визначенні показників гуморального імунітету, а саме рівні різних типів імуноглобулінів у периферичній крові встановлена залежність від характеру пухлинного процесу. При гліобlastомах виявляється більш високий рівень IgG та IgA ніж при інших пухлинах, тоді як концентрація IgM практично знаходиться на одному рівні у всіх трьох групах хворих. Спостерігається тенденція до зниження рівня IgG та IgM в крові хворих з метастатичними пухлинами. На відміну від показників клітинного імунітету, де відмічається підвищений рівень окремих субпопуляцій Т-лімфоцитів в порівнянні з даними контрольної групи. Рівні всіх імуноглобулінів були зниженими, що свідчить про певний різноспрямований вплив пухлин головного мозку на певні ланки імунної системи.

При визначенні активності неспецифічної фагоцитарної ланки імунної системи було встановлено, що у всіх групах хворих з метастатичними та первинними пухлинами виявляється гальмування рівня фагоцитарної мієлопероксидази в лейкоцитах, яке найбільш значиме було при метастатичних пухлинах. В той же час НСТ активність лейкоцитів, яка відповідає за фагоцитарну активність нейтрофілів була на рівні показників групи порівняння при метастатичних пухлинах і дещо зниженою у групі хворих з гліобlastомами.

Отже, у досліджуваної групи хворих спостерігається гальмування мієлопероксидазної активності нейтрофілів на фоні збереження функції НСТ активності клітин, що свідчить про вибіркoві порушення у фагоцитарній ланці

імунітету, яка відповідає за неспецифічний імунітет, а це може бути пов'язане з направленою дією пухлинних чинників на цю ланку імунітету.

Проаналізувавши отримані дані імунного статусу у хворих з пухлинами мозку на етапі підготовки до радіотерапевтичного лікування, яке буде направлене на пухлинне вогнище, можна узагальнити їх таким чином. Так у хворих перед початком лікування зберігається функція Т клітинної ланки імунітету за винятком незначного зниження рівня В лімфоцитів. Рівень сироваткових імуноглобулінів у крові був дещо зниженим, особливо IgM, що свідчить про певний вплив пухлинного процесу на гуморальну ланку імунітету, що підтверджується показниками рівня В-лімфоцитів (CD-19 клітин) у цих хворих. При пухлинах головного мозку також спостерігаються зміни в фагоцитарній активності нейтрофілів – з одного боку гальмування мієлопероксидазної активності клітин на фоні збереження їх НСТ активності, яка відповідає за фагоцитарну активність.

Таким чином, у хворих з пухлинами мозку до променевого лікування не спостерігаються суттєві зміни в імунній системі, які б унеможливили проведення такого лікування і були б одним із протипоказань. Більш того, виявлена певна активізація імунної системи, що підтверджується підвищенням рівня практично всіх субпопуляцій Т-лімфоцитів у периферичній крові. Зміни в гуморальній та фагоцитарній ланці у цих хворих незначні і також не є фактором, який лімітує проведення цього етапу лікування. Причини, механізми розвитку та збереження такого дисбалансу в складі та активності імунних клітин в організмі відомі і пов'язані з пухлинними чинниками в першу чергу, а потім з характером попереднього лікування, яке уже проводилось цим хворим, особливо при метастатичних пухлинах.

Другою особливістю отриманих результатів є те, що не виявлено суттєвої різниці між первинними злоякісними пухлинами головного мозку та метастатичними пухлинами мозку, де первинне вогнище частіше було в молочній залозі. Імунні показники хворих метастатичними пухлинами були подібні до відповідних показників хворих з анапластичними астроцитомами, які відносяться до III ступеня анаплазії. Найбільш злоякісні гліальні пухлини – гліобластома IV

ступеня анаплазії мали дещо збільшений рівень субпопуляцій Т-лімфоцитів, що досить складно пояснити, так як відомо, що при цих пухлинах буває найбільш значний дисбаланс в складі імунних клітин та гальмування специфічного протипухлинного імунітету.

Можливо, подальше дослідження цього питання та уточнення особливостей лікування, дозволить дати відповідь, чому при гліобластомах, пухлинах IV ступеня анаплазії, імунні показники вищі, ніж при анапластичних астроцитомах та метастазах.

У хворих з первинними пухлинами мозку реєструються певні зміни в клітинній, гуморальній та фагоцитарній ланках імунної системи, які свідчать про різнонаправлену дію пухлинного процесу на імунну систему і ці характерні зміни залежать від гістоструктури гліальних пухлин.

4.5. Переваги передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми

Одна з найважливіших тенденцій в розвитку підходів до лікування гліобластоми є стратегія комбінованого лікування. Patchell et al. (2005) в своєму фундаментальному дослідженні продемонстрували, що хірургічне лікування може призвести до збільшення виживаності і довгострокового збереження хорошого функціонального статусу.

Післяопераційна радіохірургія ложа віддаленої пухлини покращує локальний контроль росту, тим самим знижуючи ризик порушення когнітивних функцій і зберігаючи рівень якості життя.

Більшість даних в літературі показали, що швидкість локального контролю росту після післяопераційної радіохірургії перевищує 70%, але частота симптоматичного радіонекрозу відносно висока (17,5%). Висока частота радіаційних ускладнень пояснюється великим обсягом мішені. З одного боку, розміри ложа пухлини великі; з іншого боку, наявність мікроклітин гліобластоми в прилеглих тканинах призводить до збільшення площі опромінення.

Один з варіантів зниження ризику радіаційно-індукованих ускладнень - це гіпофракціонований режим променевої терапії, який дозволяє збільшити дозу опромінення, забезпечити хороший локальний контроль росту і знизити частоту радіонекрозу.

Інша стратегія лікування, яка може мінімізувати радіаційно-індуковані ускладнення, - це передопераційна радіохірургія з подальшою хірургічною резекцією пухлини протягом 24 годин. Доступні обмежені дані ретроспективних досліджень показали переваги передопераційної СРХ: більш низькі показники місцевої токсичності і високий відсоток контролю росту, який можна порівняти з ад'ювантною стереотаксичною променевою терапією.

Передопераційна СРХ – це нова парадигма комбінованого лікування. Вона має кілька переваг у порівнянні з післяопераційною радіохірургією або гіпофракціонованою променевою терапією ложа пухлини після операції.

По-перше, ймовірність «гарної відповіді» на радіохірургію може бути вище через збереження васкуляризації і відсутності післяопераційної гіпоксичної порожнини.

По-друге, окреслити інтактне вогнище пухлини значно простіше, ніж окреслити післяопераційну порожнину з неясною локалізацією і об'ємом залишкової пухлини за даними МРТ.

По-третє, оскільки пухлина підлягає подальшій повній або майже повній резекції, доза опромінення не може бути зменшена в залежності від об'єму ураження. Це може поліпшити місцевий контроль і допомогти знизити ризик радіаційної токсичності (рис. 4.7).

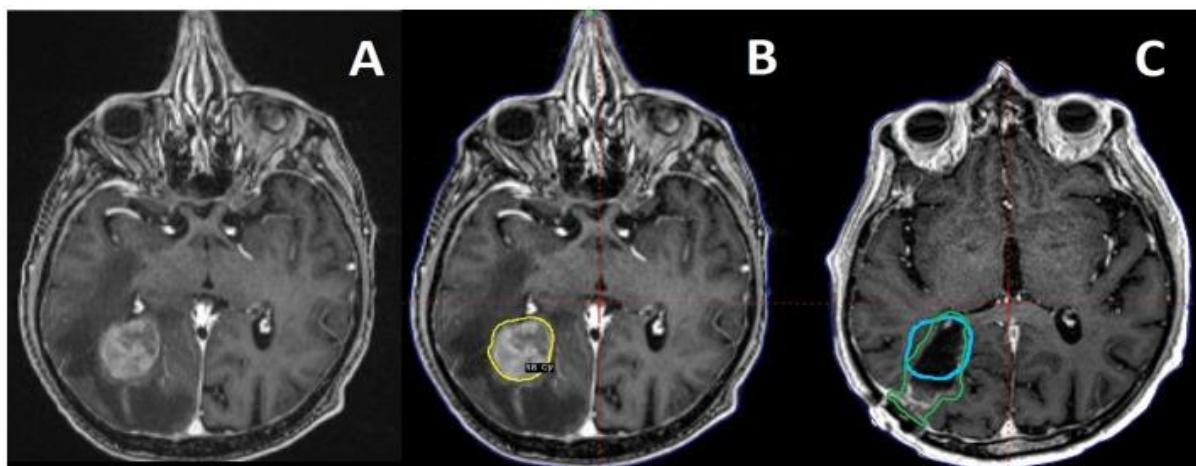


Рис. 4.7. Хворий 73-річний чоловік, (А) пухлина правої потиличної ділянки з набряком, (Б) його лікували передопераційною СРХ до 18 Гр до лінії 50% ізодози з подальшою хірургічною резекцією потиличної пухлини на наступний день. (С) Також зображено 3-місячне наступне МРТ з передопераційною мішенню, зображеною синім, в порівнянні з післяопераційною мішенню, зображеною зеленим відповідно до узгоджених рекомендацій, що демонструють зміну геометрії порожнини пухлини після резекції.

По-четверте, потенціал відсіву опромінених клітин вже значно знижений. Таким чином, може бути отримано зниження частоти місцевих рецидивів і післяопераційного лептоменінгеального поширення.

Додатковою перевагою є можливість одночасного радикального радіохірургічного лікування супутніх зон пухлинного відсіву.

4.6. Показники ефективності передопераційного радіохірургічного лікування

Для наочності результати ефективності передопераційного радіохірургічного лікування охарактеризуємо на кількох найбільш типових і яскравих прикладах (рис. 4.8 - 4.11).

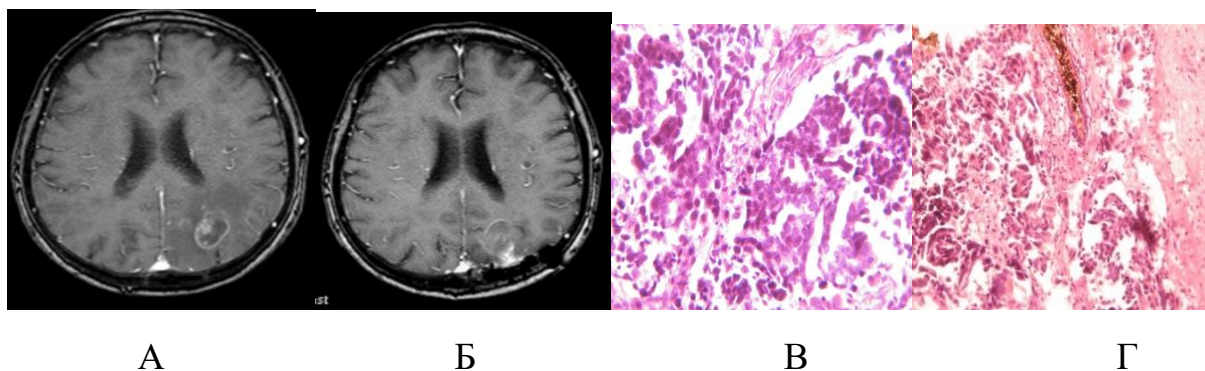
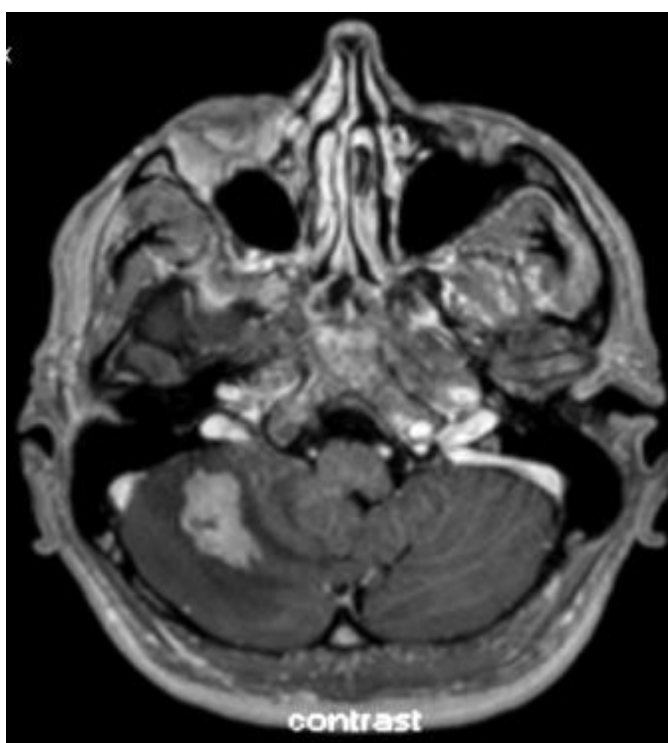


Рис. 4.8. Пацієнт 40 років. ГБМ лівої потилично-тім'яної ділянки. (А) Знімок до операції і до СРХ, демонструє вогнище овальної форми з дочірнім вогнищем невеликих розмірів медіально. (Б) Зона п/о, без ділянки геморагії, набряку і резидуальних ділянок пухлини. (В і Г) Патогістологічні зразки видаленої пухлини з ознаками променевої проліферації судин и початкового некрозу пухлинної тканини.

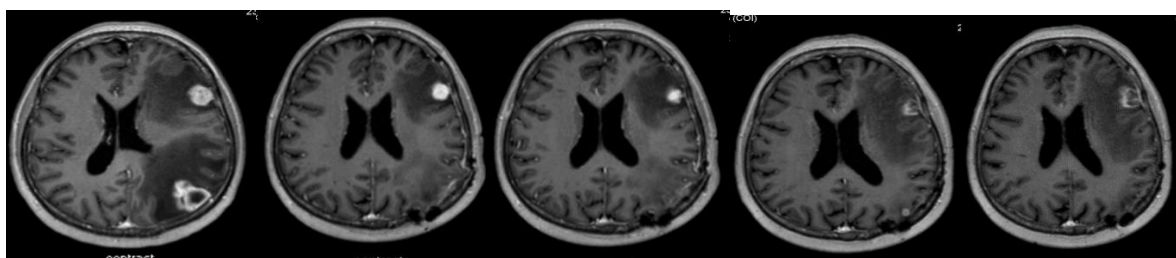




А

Б

Рис. 4.9. Пацієнт 47 років. ГБМ в правій гемісфері мозочка, в базальних відділах, що викликає здавлення довгастого мозку і каудальних відділів IV шлуночка, (А) МРТ до СРХ і до операції. (Б) МРТ після СРХ і хірургічної резекції пухлини через 3 місяці. У місці операції простежується невелика зона зниженого сигналу (зона п/о), стовбур мозку і IV шлуночок не здавлені. Два роки після СРХ без рецидиву.



А

Б

В

Г

Д

Рис. 4.10. Пацієнтка 1967 р.н. ГБМ з вогнищем відсіву. (А) МРТ до СРХ, (Б) після СРХ, через тиждень, (В) через 3 місяці, (Г) через 6 місяців, (Д) через 9 місяців (в місці операції локальний рецидив пухлини). На ділянку рецидиву була проведена повторна СРХ. На даний момент після першої СРХ пройшло 22 місяці. Стан пацієнтки задовільний.

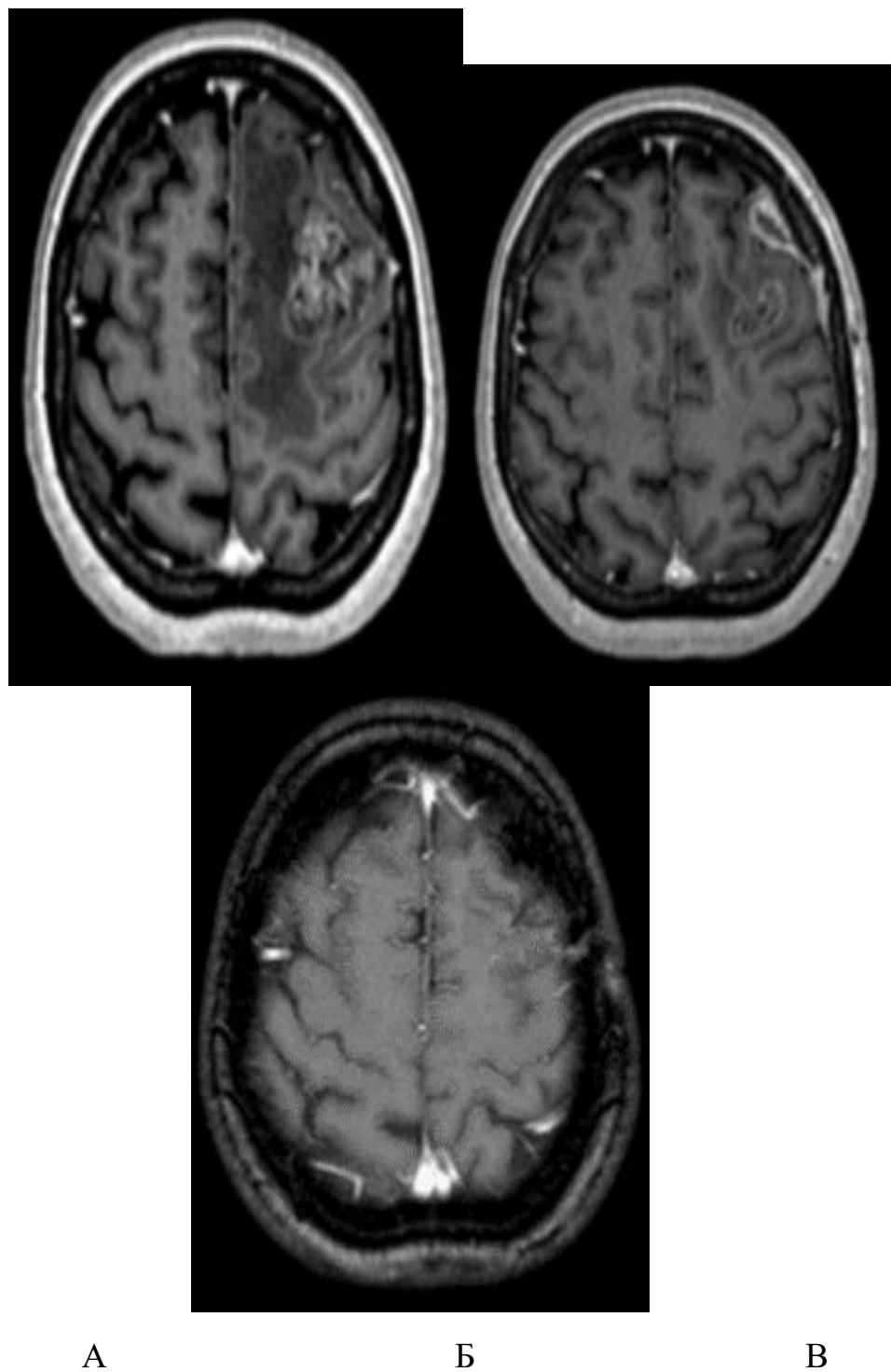


Рис. 4.11. Л. Жінка 62 років. ГБМ лобної ділянки ліворуч. Проведена передопераційна СРХ на ГБМ в лівій задньо-лобній ділянці. (А) МРТ до СРХ. (Б) Проведена СРХ і хірургічна операція. МРТ після операції невеликі ділянки п/о змін. (В) Через 13 місяців змін в області операції не виявлено. Даних за рецидив немає. Стан пацієнтки задовільний. Безрецидивний період 26 місяців.

Приклад коли була проведена тільки стереотаксична радіохірургія без подальшої хірургічної резекції (рис. 4.12).

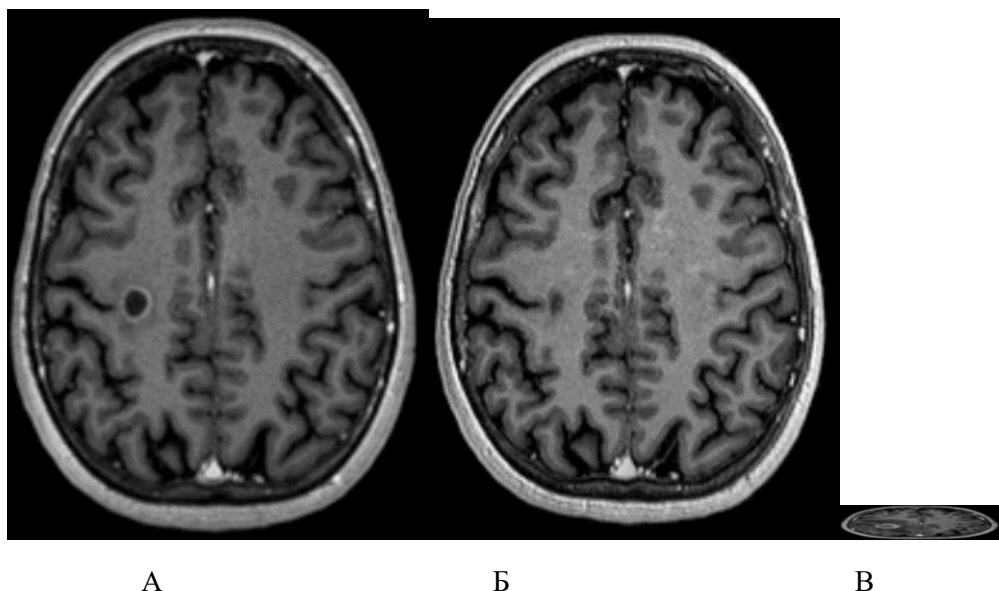


Рис. 4.12. Пацієнтка 53 років. ГБМ тім'яної частки праворуч (ділянка центральних звивин). Проведена СРХ. На об'єм 2,1 см³ на 98,2% підведена доза 20 Гр. (А) МРТ до СРХ, (Б) МРТ через 4 місяці після СРХ і (В) МРТ через 18 місяців. Ознаки радіонекрозу в місці пролікованої пухлини.

При проведенні нашої методики СРХ ознак радіонекрозу не спостерігалось ні в одному випадку.

Ознаки локального рецидиву в основній групі діагностовано протягом 24 місяців у 3 пацієнтів (9,37%). У всіх випадках повторно було проведено СРХ.

Локальний рецидив пухлини у контрольній групі визначився протягом 12 місяців у 8 пацієнтів (25,0%). У 4 випадках була повторно проведена СРХ, у 2 – хірургічна резекція, та у 2 – опромінення всього головного мозку.

Таким чином, частота локального рецидиву гліобластоми у контрольній групі у 2,5 рази вища і виникає у термін у 2 рази менший у порівнянні із досліджуваною групою. При цьому, ризик виникнення радіонекрозу дуже

низький, а медіана загальної виживаності становить 20 місяців проти 11,3 місяців у контрольній групі.

Отримані дані переконливо підтверджують ефективність новітньої методики передопераційного радіохірургічного лікування гліобластоми.

Також нашими дослідженнями встановлено, що зниження експресії PTEN є негативним прогностичним маркером виживання і маркером відповіді на специфічну терапію. А зниження рівня експресії гену MGMT в тканині пухлини головного мозку при передопераційному стереотаксичному опроміненні має позитивне значення для подальшого лікування. Найбільш значимі зміни в рівні показників клітинного імунітету, які спостерігаються при гліобластомах, характеризуються збільшенням кількості хелперних (CD-4) та цитотоксичних (CD-8) клітин у співставленні з даними групи порівняння. Характерною особливістю гліобластоми є те, що при них виникають часткові зміни в різних ланках імунітету. Так, при зниженні мієлопероксидазної активності нейтрофілів, знижений рівень IgM в крові та В-лімфоцитів, що свідчить про дисбаланс у функціонуванні імунної системи, який потрібно вчасно коригувати для попередження ускладнень імунної природи на кожному етапі комбінованого лікування.

Крім того, імунологічні показники необхідно враховувати для прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування і визначення тактики подальшого спостереження за хворими.

Таким чином, використання новітньої методики радіохірургічного лікування гліобластом на доопераційному етапі, має незаперечні переваги перед звичайною стандартною методикою опромінення ложа видаленої пухлини, головними з яких є відсутність радіонекрозу та низький відсоток локального рецидиву (9,37% проти 25,0% у контрольній групі), тобто контроль росту пухлини за нашою методикою втричі перевищив такі показники у контрольній групі.

Матеріали розділу висвітлені в публікаціях

1. Грязов А.А, Лисяний М.І, Грязов А.Б. Особливості імунного статусу у хворих з метастатичними та гліальними пухлинами головного мозку на підготовчому етапі променевого лікування. Український радіологічний та онкологічний журнал. 2020; 28(4): 353–363. <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2020.353-363>
2. Грязов А.Б., Грязов А.А. Нові технології лікування метастатичних пухлин головного мозку із застосуванням передопераційного стереотаксичного опромінення. VII з'їзд нейрохірургів України з міжнар. участю, 11-18 травня 2021 р., Сіде, Туреччина. Тези. Київ-Сіде, 2021. С. 36.
3. Грязов А.Б., Земскова О.В., Грязов А.А. Етапність стереотаксичної радіохірургії в лікуванні рецидивних гліобластом. Ukrainian Neurosurgical Journal. 2022; 28(2): 46–53. <https://doi.org/10.25305/unj.257785>.
4. Грязов, А., Грязов, А., Гридїна, Н., Стулей В. Стереотаксична радіохірургія радіорезистентних гліобластом. Шляхи подолання радіорезистентності гіпоксичних пухлин. Український радіологічний та онкологічний журнал. 2022; 30(2): 25-40. <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2022.25-40>.
5. Glavatskyi O.Ya., Griazov A.B., Chuvashova O.Yu., Kruchok I.V., Griazov A.A., Khmelnytskyi H.V., Shuba I.M., Stuley V.A, Zemskova O.V. Radiosurgical treatment of recurrent glioblastoma and prognostic factors affecting treatment outcomes. Exp Oncol. 2022 Dec;44(4):307-313.doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-4.18920.

РОЗДІЛ 5.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гліобластома є найбільш поширеною первинною злоякісною пухлиною головного мозку у дорослих та з найбільшою летальністю [1, 2]. Медіана безрецидивної та загальної виживаності після вперше встановленого діагнозу становить 6,2 - 7,5 і 14,6 - 20,5 місяців відповідно. Навіть при сьогоdnішньому стандартному лікуванні, що включає максимально безпечну хірургічну резекцію, променеву терапію та хіміотерапію, виживаність хворих незадовільна [3, 4, 5, 6, 7, 8]. У світлі цього похмурого прогнозу було докладено значних зусиль для поліпшення загального виживання пацієнтів з гліобластомою. Однак за останнє десятиліття всі доклінічні стратегії, які продемонстрували перспективні результати лікування гліобластоми, не показали покращення загального виживання у великих рандомізованих клінічних дослідженнях [4, 5, 6, 9, 10]. Основна причина цих невдач пов'язана з резистентністю пухлини до стандартних загальноприйнятих варіантів лікування гліобластоми, які включають променеву терапію із супутньою хіміотерапією. Зокрема, розкриття механізмів адаптивної радіорезистентності було серйозною проблемою. В надії знайти метод подолання цієї невідкладної клінічної проблеми, дослідження були зосереджені на визначенні молекулярних механізмів адаптивної радіорезистентності при гліобластомі.

Хоча більшість пацієнтів з гліобластомою лікувалися за тими самими загальними протоколами протягом останнього десятиліття, променева терапія істотно змінилася за цей період в результаті поліпшення оснащення і технологій візуалізації [79]. Ці зміни включають модернізацію технології променевої терапії з 2-мірної променевої терапії всього мозку, на 3-вимірну конформну променеву терапію, а останнім часом - на променеву терапію з модульованою інтенсивністю (IMRT) та променеву терапію з об'ємною дугою (VMAT) [80, 81]. Крім того, було запропоновано та використано фракціоноване стереотаксичне опромінення у кількох клінічних випробуваннях для пацієнтів з рецидивною ГБМ.

Стереотаксичне наведення додатково підвищує точність доставки лікування до рентгенологічно ідентифікованої мітки. При фракціонуванні загальна доза опромінення ділиться на фракції і вводиться протягом декількох тижнів, що покращує радіобіологічну дію на пухлину в порівнянні з нормальними тканинами, які швидше відновлюють ушкодження. Підхід, відомий як гіпофракціонована променева терапія, дозволяє розділити загальну дозу опромінення на більші разові дози, тобто на меншу кількість фракцій, і проводити їх протягом більш короткого періоду часу, що може підвищити зручність [73, 81, 82, 83, 84]. Обмежена кількість досліджень, що поєднують розширене націлювання на ГБМ на основі зображень з ескалацією дози, передбачає невелику перевагу в результатах [85, 86, 87].

Таким чином, незважаючи на значні досягнення в променевій технології, загальний результат променевої терапії при гліобластомі залишається далеким від оптимального, оскільки пухлини за своєю природою є радіорезистентними, особливо при рецидивах. Виходячи з цього, доцільно запропонувати більш ефективний сучасний метод лікування – стереотаксичну радіохірургію. СРХ здається привабливою альтернативою традиційній дистанційній променевій терапії. Її субміліметрова точність та крутий градієнт спаду дози виявляються кращими для опромінення пухлини, в той час як призначення традиційної променевої терапії загрожує високим променевим навантаженням та токсичністю на оточуючі здорові тканини.

Таким чином, було сформульовано мету цього дослідження і послідовність завдань, що підлягають вирішенню. Підвищити ефективність лікування хворих із гліобластомою передбачалося шляхом подолання гіпоксичності пухлини з використанням радіосенсибілізації нітроїмідазолами та киснем, а також шляхом обґрунтування алгоритму діагностичного супроводу пацієнтів з використанням передових програм магнітно-резонансної томографії, таких як BOLD, що визначають ступінь оксигенації гліобластоми та показання для радіосенсибілізації при радіохірургії гіпоксичних злоякісних пухлин головного мозку. Крім цього, підвищення ефективності передбачає розробку протоколу сучасних технологій

радіохірургічного лікування гліобластоми з використанням передопераційної стереотаксичної радіохірургії та визначення критеріїв прогнозу її ефективності.

Досягнення наміченої мети наукової роботи здійснено у процесі вирішення наступних завдань: визначити за даними МРТ особливості структурного біомаркування пухлинного вогнища, з виявленням ділянки гіпоксії та проміжної гіпоксії за показниками оксигенації у програмі BOLD, визначення коефіцієнту дифузії ADC, зі спостереженням у динаміці, з вивченням закономірності зміни ADC під впливом СРХ на фоні радіосенсибілізації з урахуванням можливостей реоксигенації.

Далі досягнуто вирішення завдань: визначити діагностичні критерії ранньої відповіді на лікування гліобластоми методом СРХ за даними раннього МРТ динамічного дослідження; оцінити прогностичне значення змін дифузійних показників через 1 та 6 тижнів після СРХ; вивчити вплив нітроїмідазолів (метронідазолу і німоразолу) та кисню, як радіосенсибілізаторів на ефективність стереотаксичної радіохірургії при лікуванні гліобластоми з урахуванням даних загальної та безрецидивної виживаності та токсичності.

У період з 2014 по 2021 рр. у відділенні радіонейрохірургії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» обстежено і проліковано методом стереотаксичної радіохірургії з гліобластоною (WHO Grade IV) 166 пацієнтів. Вони були поділені на три когорти.

I. 106 пацієнтів з гліобластоною, яким проводили радіохірургію з радіосенсибілізацією нітроїмідазолами (метронідазол і німоразол) – 66 хворих – основна група, та 40 – контрольна, у яких СРХ проведена без радіосенсибілізації.

II. 38 пацієнтів з рецидивною мультифокальною гліобластоною, яким було проведено радіохірургію з радіосенсибілізацією киснем.

III. 22 особи з гліобластоною, у яких була проведена тільки передопераційна стереотаксична радіохірургія.

Всі пацієнти проходили лікування на лінійному прискорювачі “Linac” фірми BrainLab методом радіохірургічного опромінення.

Критеріями відбору в лікувальні групи були:

- Пацієнти після проведення хірургічного втручання з субтотальною або тотальною резекцією пухлини, або з первинною ГБМ, яка підтверджена за даними біопсії;
- Морфологічна верифікація пухлини з діагнозом гліобластоми (WHO Grade IV);
- Первинні і рецидивні гліобластоми;
- Діапазон діаметра пухлин від 0,5 до 6 см;
- Функціональний стан хворого не менше 60 балів за індексом Карновського.
- Підтверджена гіпоксія пухлини до радіохірургії за даними МРТ, з проведенням дифузійно-зважених програм, з отриманням вимірюваного коефіцієнта дифузії (ADC), програма BOLD для отримання даних про ступінь оксигенації пухлини та реогксигенації після проведення радіосенсибілізації та за даними "кисневої проби".
- Наявність інформованої добровільної письмової згоди пацієнта на проведення радіохірургічного лікування і участь в дослідженні.

Стереотаксичну радіохірургію проводили за одну чи декілька фракцій (3-5 фракцій) 166 хворим (середній вік хворих 55 років, інтервал 28-82), 96 чоловіків (57,83%) та 70 жінок (42,16%).

Гліобластома розташовувалась частіше у тім'яній (24,09%) та лобній частках (21,08%), найрідше зустрічалася в задній черепній ямці та в підкіркових структурах мозку (по 5,42%) та стовбурі мозку (4,81%).

Клінічними проявами найчастіше були: судомний синдром (33,73%), головний біль (22,89%), слабкість (19,27%), рухові порушення та порушення чутливості (по 15,66%).

Перед проведенням сеансу радіохірургії хворим обов'язково проводили дослідження оксигенації SpO₂ крові (кількість літрів за хвилину O₂), при необхідності піднімаючи вміст O₂ до 100%. За 2 години до СРХ хворі приймали перорально 2 г метронідазолу (СРХ+МТН), або 2 г німоразолу (СРХ+НМР), або

проводили інфузію кисню («киснева проба» (CPX+O²). Під час сеансу радіохірургії інфузія кисню здійснювалася під контролем датчика тиску, пульсу та рівня кисню у крові пацієнта.

Планування радіохірургічного лікування здійснювалося поетапно:

I етап: Первинне діагностичне МРТ дослідження включало, крім стандартних послідовностей (T1WI, T2WI, FLAIR) – дифузно-зважені зображення (DWI), у тому числі дифузно-тензорні зображення (DTI) з можливістю побудови дифузійних карт та отриманням коефіцієнта дифузії (ADC), а також T1WI+c (в радіохірургічному режимі із товщиною зрізу 1 мм). За необхідності оцінки ступеня васкуляризації пухлини проводилося перфузійне МСКТ дослідження. Дані МРТ вивчалися незалежними фахівцями: лікарем – рентгенологом (радіологом) та променевим терапевтом.

II етап: Наступний етап передбачав консультацію нейрохірурга та нейроофтальмолога. Остаточне показання до CPX або CRT формував мультидисциплінарний консилиум, у складі нейрохірурга, хіміотерапевта та лікаря-радіолога (променевого терапевта).

III етап: Наступним етапом дані необхідних МРТ послідовностей завантажувалися на робочу станцію «Iplan», променевим терапевтом визначалася точна локалізації пухлини та її співвідношення з критичними структурами головного мозку, об'єм ділянки опромінення.

Наступним кроком виготовлялася індивідуальна термопластична маска, яка фіксувалася на голові пацієнта і ретельно підганялася під контури обличчя та голови пацієнта.

Після фіксації стереотаксичної маски проводилося МСКТ-сканування.

IV етап: Імпортовані на робочу станцію iPlan МСКТ-зображення поєднували із зображеннями МРТ (fusion).

V етап: Далі проводилося контурування пухлини та критичних структур головного мозку (стовбур головного мозку, хіазма, зорові нерви та тракти, очні яблука, кришталики, гіпофіз).

В ході планування лікування відбувалося контурування пухлини по даним T1WI+c, цей об'єм визначався як Gross Tumor Volume (GTV), далі співставлялися дані МРТ послідовностей T1WI+c та FLAIR і T2WI, що дозволяло визначити клінічний об'єм пухлини (CTV) - зони інфільтративного росту пухлини та перифокального набряку. Наступним етапом до об'єму мішені GTV та CTV додавався запланований об'єм пухлини (PTV), що становив 5-10 мм. Варто зазначити, що макроскопічний об'єм пухлини (GTV) міг збігатися з клінічним об'ємом пухлини (CTV). Далі відбувалося вимірювання об'єму патологічного вогнища пухлини.

В залежності від об'єму мішені опромінення пухлини, її локалізації, дози, яка припадала на критичні структури головного мозку призначався відповідний режим опромінення пухлини (кількість фракцій опромінення, разова доза опромінення, сумарна доза опромінення або разова приписана доза опромінення при радіохірургічному лікуванні).

Доза опромінення та кількість фракцій розраховувалися з урахуванням: а) об'єму пухлини; б) показника α/β ; в) біологічної ефективної дози (BED); г) визначення дози на реально опромінюваний об'єм пухлини (у відсотках); д) визначення дози на 100% об'єму мішені; е) визначення максимальної дози на осередок.

Розрахунки проводилися таким чином, щоб доза опромінення на критичні структури мозку була в межах їхньої толерантності до променевого впливу, що дозволяло мінімізувати післяпроменеві реакції. Залежно від клінічної ситуації вибиралися такі методики опромінення: а) із 5 напрямків при використанні методики Dyn Arc; б) з 8 - 12 напрямків під час використання методики IMRT; в) комбіноване опромінення - Dyn Arc + IMRT.

VI етап: Затвердження остаточного плану лікування за участі променевого терапевта, медичного фізика та завідувача відділення радіонейрохірургії (формування кількості полів опромінення, напрямків, розрахунок дози, визначення методики).

VII етап: Точне позиціонування та репозиціонування.

VIII етап: Безпосередній етап опромінення.

Залежно від клінічної ситуації вказані режими СРХ проведені: з 5 напрямів під час використання методики Dyn Arc (у 10,6% випадків); з 8 - 12 напрямків при використанні методики IMRT (у 22,4% випадків). Найчастіше використовувалося поєднання методик Dyn Arc+IMRT (67,0%).

Як радіосенсибілізатори були використані метронідазол і німоразол (з розрахунку 1,2 гр/м² поверхні тіла) і кисень.

Статистична обробка одержаних результатів здійснювалася з використанням комп'ютерної бази даних.

Катамнестичний метод набору респондентів протягом трирічного (для основної групи) та п'ятирічного (для контрольної групи) періоду дозволив набрати статистично значущу групу пацієнтів для: достовірного розрахунку показників діагностичної ефективності нейровізуалізуючих методів, моніторингу ранньої відповіді на лікування, диференційної діагностики локального контролю росту пухлини та виживання після СРХ. Розрахунок медіан здійснено бутстреп - методом (IBM SPSS Ver.21). Використання точного критерію Фішера передувало побудова таблиць крос-табуляції для відповідних частот показника та фактора, якою розглядалася обидві групи (основна та контрольна).

Обов'язковою умовою дослідження однорідності груп стала перевірка можливості використання тестів Гехана та Лог-Ранку для порівняння тривалості безрецидивного періоду та загального виживання у пацієнтів контрольної та основної груп. Неоднорідна структура злоякісних гліальних пухлин представлена гіпоксично-некротичними зонами структурних біомаркерів, у тому числі зоною проміжної гіпоксії [61, 71, 93, 100, 176], визначення яких найбільш значуще за даними показника коефіцієнта вимірювання. Так показники ADC у зоні проміжної гіпоксії становлять $0,7-0,8+0,4 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ ($p=0,0000$) і значно відрізняються від показників некрозу та пухлинних кіст ($2,0-2,5+0,19 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ та $2,8-3,3+0,6 \times 10^{-3} \text{мм}^2/\text{с}$ відповідно).

За характером змін показників ADC у зоні проміжної гіпоксії пухлини після прийому радіосенсибілізатора, виявилось можливим припустити результат

радіохірургічного лікування. Так, відсутність змін показників ADC, або зниження було предиктором прогресування захворювання ($p < 0,05$), а підвищення - сприятливою ознакою ефективності лікування ($p < 0,0001$).

На підставі точного критерію Фішера та таблиць крос-табуляції для відповідних частот показника та фактора, за яким порівнювалися основна та контрольна групи, з достовірною значимістю ($p < 0,0001$) підтверджено, що збільшення показника проміжної гіпоксії ADC через 7 днів після CPX є предиктором ранньої відповіді на лікування гліобластоми. ADC виявився високоінформативним для визначення доцільності використання радіосенсибілізації при CPX гліобластоми. Аналіз даних високоінформативних технологій оцінки дифузійних процесів дозволив визначити прогностичні критерії характеру ранньої відповіді гліобластоми на стереотаксичну радіохірургію.

Подолання радіорезистентності пухлини радіохірургією у принципі не заперечується. Проте, дискусійним залишається принцип вибору оптимальних доз опромінення [135, 252, 260]. В даному дослідженні оцінка ступеня та характеру відповіді гліобластоми на CPX з радіосенсибілізацією здійснена залежно від об'єму, дози та вибору радіосенсибілізатора.

На етапі діагностики ми зіставляли дані програми BOLD, нативні та постконтрастні MPT T133, до та після проведення "кисневої проби", а також дані дифузно-зважених зображень, особливо нас цікавив показник вимірюваного коефіцієнта дифузії (ADC).

Надалі, на етапі радіохірургічного лікування гліобластоми, для радіосенсибілізації, ми вже використовували сам кисень, або препарати з групи нітроїмідазолів, що мають значний киснеподібний ефект. Описані вище дані про взаємозв'язок можливостей візуалізації гіпоксичних ділянок пухлини завдяки "кисневій пробі", даних програми BOLD та коефіцієнта дифузії (ADC), у тому числі в зоні проміжної гіпоксії. Дані ранньої відповіді пухлини на радіохірургічне лікування з рівнем дифузійних процесів та об'ємним зменшенням вогнищ систематизовані розрахунком чутливості та специфічності відповідних показників через 6 тижнів після лікування (табл. 5.1).

Таким чином найбільш чутливим прогностичним тестом для ефективності CPX є MPT DWI з визначенням коефіцієнта дифузії в ділянці проміжної гіпоксії (чутливість – 94,0%, специфічність – 83,1%). При цьому вищі показники специфічності (86,0%) демонструє програма BOLD, найменш чутливі (82,0%) та специфічні (68,2%) показники ранньої об'ємної регресії пухлини.

Таблиця 5.1.

Чутливість та специфічність ADC в ділянці проміжної гіпоксії, програма

BOLD та об'ємна регресія пухлини у прогнозі успішності CPX

Показники (%)	ADC в ділянці проміжної гіпоксії	Дані BOLD	Об'ємна регресія пухлини
Чутливість	94,0	90,2	82,0
Специфічність	83,1	86,0	68,2

Для підтвердження достовірності наочності показників ADC та BOLD після CPX з радіосенсибілізацією як предикторів ранньої відповіді на лікування проведено відповідні статистичні розрахунки.

Використаний точний критерій Фішера для перевірки нульової гіпотези про відсутність статистичної відмінності між групами за частотами відповідних показників (з рівнем статистичної значущості 0.05) та таблиці крос-табуляції для відповідних частот показника та фактора, за яким порівнювалися основна та контрольна групи (табл. 5.2).

На підставі отриманих даних з достовірною значущістю 0.0000 підтверджено, що збільшення показника ADC та зниження показників BOLD є предиктором ранньої відповіді на радіохірургічне лікування гліобластоми.

Стереотаксична радіохірургія гліобластоми за одну чи декілька фракцій проведена у 106 пацієнтів (середній вік 55 років, інтервал 29-82), 71 чоловік (62,26%) та 45 жінок (37,73%). Серед пацієнтів основну групу склали 66 осіб, яким CPX проводили з радіосенсибілізацією. 30 з них приймали радіосенсибілізатор метронідазол (CPX+МТН) та 36 - німоразол (CPX+НМР). 40 пацієнтів склали контрольну групу, яким проводили CPX без радіосенсибілізації (CPX PC-).

Таблиця 5.2.

Перевірка H0 про відсутність статистичної різниці між групами за частотами відповідних показників

Summary Frequency Table (INPUT_ver_02_розрахункова)				
Marked cells have counts > 10 (Marginal summaries are not marked)				
	ADC (6 тижнів після CPX збільш. = 1)	Когорта: основна = 1, контрольна = 0 0	Когорта: основна = 1, контрольна = 0 1	Row Totals
Count	0	71	16	88
Row Percent		86,17%	17,81%	
Total Percent		25,32%	7,26%	30,41%
Count	1	37	138	155
Row Percent		22,35%	77,34%	
Total Percent		15,25%	55,23%	55,42%
Count	All Grps	40	88	160
Total Percent		32,84%	58,52%	

Протягом першого тижня після CPX проводили повторне МРТ з метою оцінки показників коефіцієнта дифузії (ADC) в зоні проміжної гіпоксії для визначення можливих предикторів на радіохірургічне лікування гліобластоми з використанням радіосенсибілізації. За допомогою послідовності GRE з кількома ехо-сигналами, чутливою до змін властивостей локального магнітного поля, ми визначали зображення дезоксигемоглобіну та статичних компонентів тканини, T2* швидкість релаксації ($R2^*=1/T2^*$). Зміни R2* зображення свідчили про збільшення оксигенації тканин за рахунок покращеного кровотоку та судинної функції. Особливостями гліобластоми є радіорезистентність, тому ми намагалися,

дотримуючись показників толерантності мозкових структур, підвести максимальну дозу на пухлинне вогнище.

На етапі діагностики було пріоритетно визначення ступеня гіпоксії пухлини (гострої чи хронічної), та обсяг гіпоксичної частки. Найбільш важливим моментом було визначення проміжної гіпоксії у тканині пухлини та гіпоксичної пенумбри, а також можливості оксигенації, яку ми визначали за допомогою кисневої проби.

Ми робили МРТ (з обов'язковим проведенням програми BOLD), визначали гіпоксичні фракції пухлини, а потім протягом 20 хвилин проводили інфузію киснем і знову повторювали МРТ за програмою BOLD для візуалізації оксигенації, її характеру, з отриманням піку інтенсивності сигналу в зоні активного пухлинного росту, до піку насичення пухлини, всього її об'єму, що в наших спостереженнях склало: ППС через 20 хвилин після інфузії кисню та ПНП ще через 20 хвилин.

Таким чином, ми вирахували часовий інтервал, в якому ми повинні проводити сеанс радіохірургії, від моменту піку інтенсивності сигналу в зоні активного пухлинного росту, до моменту повного насичення пухлинної тканини O_2 .

Використання радіосенсибілізації підвищило радіочутливість пухлин та дало прийнятні результати лікування. Протягом тижня було отримано ранню відповідь на СРХ з радіосенсибілізацією, більш виражену в підгрупі СРХ з використанням німоразолу у порівнянні з метронідазолом. Ми враховували лише ті випадки, коли об'єм пухлини зменшився не менше ніж на 10%. Відсоток ранньої відповіді, виходячи з кількості пухлинних вузлів та зменшення об'єму пухлини, переважали в підгрупі з використанням німоразолу, в порівнянні з підгрупою використання метронідазолу, у співвідношення 54,4% проти 45,4%, та 25,0% проти 15,0%, відповідно. Зменшення об'єму пухлини у контрольній групі протягом тижня не визначалося.

Відсоток післяпроменевих побічних ефектів після СРХ не значно відрізнявся в основній та контрольній групах (16,6% в основній групі, проти

10,0% в контрольній), проте у підгрупі з використанням НМР цей відсоток був найменшим і становив лише 5,6%. Відсоток пацієнтів, у яких розвинувся променевиї некроз у термін від 60 до 288 днів після СРХ в основній групі був у два рази менший у порівнянні з контрольною групою (6,06% проти 12,5%), ($p < 0,002$, лог-ранговий критерій). При тому, що у підгрупі з МТН він також був високим і становив - 10%, тоді як у підгрупі з НМР лише 2,7%.

Таким чином, за рахунок підвищення радіочутливості пухлини, зменшувалась лікувальна доза на пухлину, що відповідно зменшувало кількість випадків радіонекрозу. У підгрупі з метронідазолом у 6,6% хворих спостерігалися ознаки помірної токсичності у вигляді прояву нудоти і в цих випадках, для зняття проявів ми застосовували метоклопрамід. У підгрупі з німоразолом ознак токсичності не визначалося.

Ознаки локального рецидиву у контрольній групі визначалися протягом 12 місяців у 8 пацієнтів (20,0%). У 4 випадках була повторно проведена СРХ, у 2 – хірургічна резекція, та у 2 – опромінення всього головного мозку.

Таким чином, середня загальна виживаність становила в основній групі: $28,7 \pm 1,6$ місяців (95%DI:25,5-31,9), в контрольній: $11,3 \pm 0,63$ місяців (95%DI:10,1-12,6), СБВ становила в основній групі: $20,4 \pm 1,0$ місяців (95%DI:18,3-22,4), в контрольній: $8,3 \pm 0,4$ місяців (95%DI:7,4-9,2). $X^2=45,9$ ($p < 0,0001$) (табл. 5.3).

З таблиці видно, що збільшення показників середньої загальної виживаності та середнього безрецидивного виживання були достовірно значущі і вище в основній групі з радіосенсибілізацією, особливо при використанні німоразолу (СЗВ: 30,9 місяців проти 10,9 місяців, СБВ: 21,1 місяців проти 7,9 місяців $X^2=49,2$ ($p < 0,0001$)), а також в основній групі при лікувальній дозі більше 17 Гр (СЗВ: 31,7 місяців проти 11,3 місяців, СБВ: 22,3 місяців проти 8,5 місяців $X^2=49,2$ ($p < 0,0001$)), та при об'ємі пухлини менш ніж $2,9 \text{ см}^3$ (СЗВ: 29,5 місяців проти 11,8 місяців, СБВ: 20,8 місяців проти 8,5 місяців $X^2=30,9$ ($p < 0,0001$)).

Таблиця 5.3.

Показники середньої загальної виживаності і середньої безрецидивної виживаності в основній і контрольній групах залежно від радіосенсибілізації, лікувальної дози та об'єму пухлини

Показники ефективності СРХ	Основна група		Контрольна група		Достовірність
	СЗВ*	СБВ*	СЗВ	СБВ	
РС*	28,7±1,6(95% DI:25,5-31,9)	20,4±1,0(95%D I:18,3-22,4)	11,3±0,63(95% DI:10,1-12,6)	8,3±0,4(95% DI:7,4-9,2)	X ² =45,9 (p<0,0001)
РС МТН*	22,9±1,73(95% DI:19,5-26,3)	17,5±1,2(95%D I:15,0-20,1)	10,9±0,66(95% DI:9,6-12,2)	7,9±0,4(95% DI:6,9-8,8)	X ² =49,3 (p<0,0001)
РС НМР*	30,0±2,12(95% DI:25,9-34,2)	21,1±1,3(95%D I:18,4-23,8)	10,9±0,66(95% DI:9,6-12,2)	7,9±0,4(95% DI:6,9-8,8)	X ² =49,2 (p<0,0001)
Доза >17Гр	31,7±1,5(95% DI:28,6-34,8)	22,3±0,9(95%D I:20,4-24,3)	11,3±0,78(95% DI:9,8-12,8)	8,5±0,5(95% DI:7,4-9,6)	X ² =49,2 (p<0,0001)
Доза <17Гр	15,8±2,2(95% DI:11,5-20,2)	11,4±1,4(95%D I:8,7-14,2)	10,9±0,8(95% DI:9,2-12,5)	7,5±0,5(95% DI:6,3-8,6)	X ² =49,2 (p<0,0001)
Об'єм <2,9см ³	29,5±1,8(95% DI:25,9-33,2)	20,8±1,2(95%D I:18,5-23,2)	11,8±0,8(95% DI:10,1-13,5)	8,5±0,6(95% DI:7,3-9,8)	X ² =30,9 (p<0,0001)
Об'єм >2,9см ³	21,8±2,2(95% DI:17,4-26,1)	14,7±1,1(95%D I:12,4-17,0)	10,3±0,6(95% DI:9,0-11,7)	7,6±0,4(95% DI:6,6-8,6)	X ² =30,9 (p<0,0001)

*СЗВ – середня загальна виживаність, СБВ – середнє безрецидивне виживання, РС – радіосенсибілізація, МТН – метронідазол, НМР – німоразол

Достовірним показником кращого виживання були також дані коефіцієнта дифузії (ADC) протягом першого тижня після СРХ, збільшення яких було предиктором ефективності лікування та показало результати середнього загального виживання 29,2 місяців проти 12,2 місяців, а СБВ становило 20,7 місяців проти 13,0 місяців X²=25,074 (p<0,0001)). (табл. 5.4).

Таблиця 5.4.

Показники залежності СЗВ та СБВ від збільшення ADC протягом тижня після СРХ, та від наявності оксигенації та реоксигенації за даними MPT

BOLD

Показники ефективності СРХ	Основна група		Контрольна група		Достовірність
	СЗВ*	СБВ	СЗВ*	СБВ	
Збільшення ADC протягом тижня після СРХ	29,2±1,6(95%DI:26,0-32,5)	20,7±1,0(95%DI:18,6-22,8)	12,2=0±1,2(95%DI:9,7-14,4)	13,0±2,5(95%DI:7,9-18,0)	X ² =25,074 (p<0,0001)
Відсутність збільшення ADC протягом тижня після СРХ	16,2±4,4(95%DI:7,6-24,8)	9,0±0,9(95%DI:7,2-10,8)	10,7±0,6(95%DI:9,5-11,9)	7,9±0,5(95%DI:6,9-8,8)	X ² =1,551 (p<0,213)
BOLD оху*	27,6±1,6(95%DI:24,4-30,8)	20,4±1,0(95%DI:18,3-22,4)	12,1±0,6(95%DI:10,8-13,5)	10,0±0,8(95%DI:8,3-11,6)	X ² =5,209 (p<0,022)
Відсутність BOLD оху	10,9±0,6(95%DI:9,7-12,2)	7,8±0,4(95%DI:6,9-8,7)	10,9±0,6(95%DI:9,7-12,2)	7,8±0,4(95%DI:6,9-8,7)	X ² =4,521 (p<0,033)

BOLD оху* – оксигенація та реоксигенація за даними MPT BOLD

Важливими, хоч статистично не значущими, були дані ступеня оксигенації та реоксигенації у програмі MPT BOLD, які корелювали з показниками середнього загального виживання: 27,6 місяців, проти 12,1 місяців (p<0,022), та СБВ: 20,4 місяців проти 10,0 місяців (p<0,033).

Показники статистичного аналізу (за методом Kaplan-Meier) доводять, що запропонований метод лікування демонструє достовірно значущі відмінності безрецидивного та загального виживання при радіохірургії гліобластом з радіосенсибілізацією метронідазолом і німоразолом (основна група) та контрольної групи без радіосенсибілізації.

Таким чином, радіосенсибілізація при проведенні СРХ гіпоксичних радіорезистентних гліобластом, покращує на 53,3% показники загального та на

24,8% безрецидивного виживання в порівнянні з контрольною групою, а німоразол та метронідазол є потужними радіосенсибілізаторами, які підвищують радіочутливість пухлинних клітин, шляхом збільшення кисневої насиченості гіпоксичних клітин. Для визначення показань щодо проведення СРХ з радіосенсибілізацією та термінів проведення сеансу СРХ, ми обов'язково повинні враховувати результат МРТ (ADC та BOLD), та кисневої проби (ступень насиченості пухлини киснем), пік інтенсивності сигналу в зоні проміжної гіпоксії пухлини та пік насиченості всього об'єму пухлини.

38 пацієнтам з діагнозом рецидивна мультиформна гліобластома була проведена СРХ. Середня доза була 17 Гр та середній об'єм опромінення становив 12,2 см³ за одну або кілька фракцій опромінення (3-5).

До проведення СРХ у 20 хворих пухлина була видалена тотально або субтотально, у 18 - частково. 26 пацієнтам здійснювали СРХ з радіосенсибілізацією 95% киснем. Під час МРТ проводили «кисневу пробу» перед сеансом радіохірургії (СРХ+O₂). 12 пацієнтам проводили СРХ без радіосенсибілізації.

Позитивна "киснева" проба під час проведення МРТ до сеансу радіохірургії, демонструвала виражений ступень оксигенації у програмі BOLD, за рахунок інтенсивного насичення киснем гіпоксичної тканини пухлини. Це давало на МРТ підвищений, яскраво-інтенсивний сигнал і підтверджувало, з одного боку, покази для проведення радіосенсибілізації, з іншого боку, було предиктором успішності радіохірургічного лікування гліобластоми.

Кисень продемонстрував себе як ефективний радіосенсибілізатор при неоперабельних гліобластомах з мультифокальним ростом. Крім того, відсоток післяпроменевих радіаційних явищ після СРХ становив 12,6%, а у хворих з радіосенсибілізатором, цей показник склав лише 6,7%.

Серед достовірних факторів, які за даними Карпан-Меєр позитивно вплинули на показники середнього загального виживання (СЗВ), була доза радіохірургічного лікування. Так при дозі >17 Гр загальне виживання в основній групі склало 22,9 місяців, при дозі < 17 Гр лише 10,9 місяців, $X^2=49,6$ ($p<0,0001$).

Також достовірним фактором в основній та контрольній групах, що впливали на СЗВ, був об'єм пухлини, що опромінювався. Так, СЗВ при об'ємі пухлини менш ніж $2,9\text{см}^3$, в основній групі склала 22,9 місяців, а в групі більш ніж $2,9\text{см}^3$, лише 15,2 місяців, $X^2=49,6$ ($p<0,0001$).

Крім того, предиктором ефективності радіохірургічного лікування, були показники BOLD оксигенації. СЗВ, хоча і не була статистично значима, становила у основній групі 27,6 місяців, а в контрольній групі – 12,1 місяців, $X^2=5,20$ ($p<0,022$).

Ефективність лікування з радіосенсибілізацією в цілому підтверджували дані СЗВ, де середнє загальне виживання становило в основній групі: $28,7\pm 1,6$ місяців (95%DI:25,5-31,9), в контрольній: $11,3\pm 0,63$ місяців (95%DI:10,1-12,6), та СБВ становила в основній групі: $20,4\pm 1,0$ місяців (95%DI:18,3-22,4), в контрольній: $8,3\pm 0,4$ місяців (95%DI:7,4-9,2) $X^2=45,9$ ($p<0,0001$).

Таким чином, проведення стереотаксичної радіохірургії на вогнище рецидиву мультиформної гліобластоми є найбільш ефективним методом лікування і практично безальтернативним, так як опромінення всього мозку малоефективне при мГБМ та некоректно при невеликому одиничному осередковому ураженні і загрожує когнітивними порушеннями.

Радіосенсибілізація киснем при проведенні СРХ гіпоксичних радіорезистентних гліобластом покращує на 60,0% показники загального та на 53,3% безрецидивного виживання, в порівнянні з контрольною групою, а кисень є потужним радіосенсибілізатором, який підвищує радіочутливість пухлинних клітин, шляхом збільшення кисневої насиченості гіпоксичних клітин.

На сьогоднішній час все більше уваги приділяється вивченню генетичних змін у клітині, що відбуваються під час її трансформації, їх впливу на структурні та функціональні особливості.

Мутації в генах ізоцитратдегідрогеназ 1 та 2 (IDH1 та IDH2) відіграють суттєву роль у гліомогенезі, а також визначають діагностику та вибір терапії пацієнтів. Функцією ізоцитратдегідрогеназ є окислювальне декарбоксилювання ізоцитрату, який перетворюється в α -кетоглутарат.

Соматичні мутації в генах IDH1 та IDH2, які визначаються в гліомах та деяких інших пухлинах, являють собою гетерозиготні міссенс- мутації у каталітичному домені ферментів. Найбільш розповсюджені (> 90% випадків) мутації викликають заміну аргініну (R132) на гістидин в IDH1 та аргініну (R172) на лізин в IDH2. Мутації призводять до втрати нормальної функціональної активності ферментів (утворення α - кетоглутарату), які набувають нову функцію (утворення 2-гідроксиглутарату). Таким чином, мутації в генах IDH1 та IDH2 мають два наслідки для клітини.

По-перше, знижується рівень нормального метаболіту α -кетоглутарату, який є ключовим проміжним продуктом циклу Кребса, необхідним для нормального його проходження та для багатьох інших процесів у клітині, таких як метаболізм жирів, ацетилювання білків та інші. Роль порушення цих процесів у канцерогенезі наразі мало вивчена. По-друге, у клітинах гліом накопичується 2-гідроксиглутарат, який розглядається як онкометаболіт.

В експериментах з культурами клітин було показано, що клітини, які містять мутантні IDH1/2 мають підвищену радіочутливість та чутливість до хіміопрепаратів, що, вірогідно, пов'язано з порушенням відповіді на окислювальний стрес. Підвищення чутливості гліом з мутантними IDH1/2 до радіо- та хіміотерапії також було показано і в клінічних дослідженнях. Мутації в генах IDH1 та IDH2 зустрічаються більше ніж в 80% гліом, а також у 70% - 80% вторинних і рецидивних гліобластом. Часто ці мутації є ранніми та ключовими, що призводять до розвитку пухлини, що визначає більш сприятливий прогноз перебігу захворювання.

MGMT є одним із ферментів системи репарації ДНК. Він видаляє метильні та хлоретильні групи з O⁶- позиції гуаніну, нейтралізуючи цитотоксичний ефект алкілюючих агентів. В нормальних клітинах глії ген MGMT експресується на високому рівні. Зниження рівня експресії фермента за рахунок метилювання промотора гена спостерігається тільки в клітинах пухлин, збільшує цитотоксичність алкілюючих агентів вибірково по відношенню до клітин пухлин. Хоча важливість визначення мутацій IDH1/2 та метилювання MGMT

загально визнана, залишається незрозумілим, вони надають незалежну інформацію як біомаркери, чи таку, що перекривається.

PTEN (phosphatase and tensin homolog) – білок, що кодується геном PTEN, бере участь в регуляції клітинного циклу, є пухлинним супресором, функціонує як фосфатаза. Головною функцією PTEN є пригнічення сигнального шляху, контрольованого фосфоінозитол-3-кіназою – одного з основних шляхів, відповідальних за проліферацію та виживання клітин. Мутації в гені PTEN призводять до розвитку пухлин, що виявляється в багатьох новоутвореннях. Білок, який кодується цим геном, є фосфатиділінозитол-3,4,5-трифосфат-3-фосфатазою, містить тензин-подібний домен (каталітична частка) і є білковою тирозиною фосфатазою. На відміну від інших білкових тирозинових фосфатаз, цей білок переважно дефосфорилує фосфоінозитидні субстрати, знижує внутрішньоклітинний рівень фосфатиділінозитол-3,4,5-трифосфату (PIP3), що в результаті пригнічує сигнальний шлях PI3K /Akt.

Білок PTEN містить фосфатазний домен і C2-домен: фосфатазний домен містить активний сайт зв'язування, який і здійснює ферментативну функцію білка, C2-домен здійснює прикріплення до фосфоліпідної мембрани. PTEN взаємодіє з мембрано-пов'язаним PIP3 та дефосфорилує його. PTEN є частиною сигнального шляху, який зупиняє ділення клітин та індукує апоптоз, що запобігає неконтрольованому росту клітин та прогресуванню онкологічного процесу.

При злоякісній трансформації в клітинах накопичуються мутації, які забезпечують прогресію пухлин. Мутації в гені білка PTEN призводять до втрати його ферментативної активності, що знижує контроль проліферації та апоптозу клітин. Втрата PTEN найчастіше супроводжується активацією фосфоінозитол-3-кінази. Генетична інактивація PTEN відзначається при гліобластомі, раку матки, раку простати, а зниження активності PTEN відзначається при раку легенів, раку молочної залози та ін.

Отримано фрагменти тканин пухлин від пацієнтів контрольної (n = 10. та досліджуваної групи (n = 12). Досліджувана група - група пацієнтів, що отримували передопераційне стереотаксичне опромінення. Ця група складалась з

випадків первинної та рецидивної гліобластоми. Матеріал для дослідження отримували з фрагментів тканини пухлин головного мозку, вилученої під час хірургічного втручання. Тканину пухлин відразу після вилучення в стерильних умовах обробляли наступним чином – видаляли фрагменти судин та некротизовані фрагменти, очищену тканину поміщали у стерильні кріопробірки та зберігали у рідкому азоті при температурі – 196°C до моменту використання в експерименті.

Встановлено: підвищення рівня експресії гену PTEN у тканині пухлини головного мозку при передопераційному стереотаксичному опроміненні. Розрахунок значення рангового U- критерію Манна – Уїтні показав, що статистично значущих відмінностей між групою контролю та експериментальною групою в разі визначення показника експресії гену PTEN немає.

Виявлено відносно високий рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN у середині групи пацієнтів, що отримували при лікуванні передопераційне стереотаксичне опромінення. Це стосується випадку пухлини правої скроне-підкоркової ділянки (2,20 у.о.), у лівій тім'яній частці (2,07 у.о.), гліобластоми лобно-кальозної ділянки (1,07 у.о.), мультифокального рецидиву правої гемісфери великого мозку та потовщення мозолистого тіла (2,38 у.о.). У випадку враження гліобластомою задньої-черепної ямки рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN перевищив значення такого в групі контролю і становив 9,34 у.о. Такі значення експресії гену PTEN є прогностично позитивним фактором для призначення хіміотерапії.

У когорті хворих, при лікуванні яких застосовували передопераційне опромінення, нами встановлено підвищення рівня нормалізованого показника експресії гену PTEN. А саме: у випадку пухлини у правій скроневої ділянці (0,29 у.о.), мультифокальної гліобластоми суб/супратенторіальних відділів головного мозку (0,31 у.о.), біфокальному ураженні головного мозку (0,22 у.о.), рецидивної гліобластоми хробака зліва (0,35 у.о.) та гліобластоми лівої потиличної ділянки (0,18 у.о.).

Низький рівень нормалізованого показника експресії гену PTEN (0,01 у.о.) встановлено у випадку з рецидивною гліобластою суб/супренторіальною локалізації з ростом у мозолисте тіло і може мати негативне прогностичне значення при подальшому лікуванні.

Дослідження імунного статусу у хворих на первинні пухлини головного мозку (гліобластоми) при порівнянні з вторинними пухлинами, виявило зміни в різних ланках імунної системи. Так, при порівнянні абсолютної кількості окремих субпопуляцій лімфоцитів виявлено дисбаланс в складі CD-3,4,8 Т-лімфоцитів та 19 В-лімфоцитів, а саме: в порівнянні з групою неонкологічних хворих було встановлено підвищення вказаного рівня субпопуляцій Т-лімфоцитів, зниження рівня CD-19 лімфоцитів у периферичній крові. При порівнянні імунних показників у хворих з первинними злоякісними пухлинами мозку – гліобластомами та анапластичними астроцитомами з вторинними метастатичними пухлинами було встановлено незначні відмінності в кількості Т та В субпопуляцій лімфоцитів, а саме, виявлено, що при гліобластомах був найвищий рівень CD-4 та CD-8 лімфоцитів, в порівнянні з іншими групами пухлин, хоча статистичної вірогідної відмінності між цими показниками не виявлено.

При визначенні показників гуморального імунітету, а саме рівні різних типів імуноглобулінів у периферичній крові встановлена залежність від характеру пухлинного процесу. При гліобластомах виявляється більш високий рівень IgG та IgA ніж при інших пухлинах, тоді як концентрація IgM практично знаходиться на одному рівні у всіх трьох групах хворих. Спостерігається тенденція до зниження рівня IgG та IgM в крові хворих з метастатичними пухлинами. На відміну від показників клітинного імунітету, де відмічається підвищений рівень окремих субпопуляцій Т-лімфоцитів в порівнянні з даними контрольної групи порівняння, рівні всіх імуноглобулінів були зниженими, що свідчить про певний різноспрямований вплив пухлин головного мозку на певні ланки імунної системи.

Таким чином, у хворих з пухлинами мозку на етапі підготовки до променевої терапії не спостерігаються суттєві зміни в імунній системі, які б унеможливили проведення такого лікування і були одним із протипоказань. Більш

того, виявлена певна активізація імунної системи, що підтверджується підвищенням рівня практично всіх субпопуляцій Т-лімфоцитів у периферичній крові. Зміни в гуморальній та фагоцитарній ланці у цих хворих незначні і також не є фактором, який лімітує проведення цього етапу лікування. Причини, механізми розвитку та збереження такого дисбалансу в складі та активності імунних клітин в організмі відомі і пов'язані з пухлинними чинниками в першу чергу, а потім з характером попереднього лікування, яке уже проводилось цим хворим, особливо при метастатичних пухлинах.

Можливо, подальше дослідження цього питання та уточнення особливостей лікування, дозволить дати відповідь, чому при гліобlastомах, пухлинах IV ступеня анаплазії, імунні показники вищі, ніж при анапластичних астроцитомах та метастазах.

У хворих з метастатичними та первинними пухлинами мозку реєструються певні зміни в клітинній, гуморальній та фагоцитарній ланках імунної системи, які свідчать про різнонаправлену дію пухлинного процесу на імунну систему і ці зміни мають характер та залежать від гістоструктури гліальних пухлин.

Одна з найважливіших тенденцій в розвитку підходів до лікування гліобlastоми є стратегія комбінованого лікування, так Patchell and al. (2005 р.) в своєму фундаментальному дослідженні продемонстрували, що хірургічне лікування може призвести до збільшення виживаності і довгострокового збереження прийняттого функціонального статусу.

Післяопераційна радіохірургія ложа видаленої пухлини покращує локальний контроль росту, тим самим знижуючи ризик зниження когнітивних функцій і зберігаючи рівень якості життя.

Більшість даних в літературі показали, що швидкість локального контролю росту після проведення післяопераційної радіохірургії перевищує 70%, але частота симптоматичного радіонекрозу відносно висока (17,5%). Висока частота радіаційних ускладнень пояснюється великим об'ємом мішені. З одного боку, розміри ложа пухлини великі; з іншого боку, наявність мікроклітин гліобlastоми в прилеглих тканинах призводить до збільшення площі опромінення.

Інша стратегія лікування, яка може мінімізувати радіаційно-індуковані ускладнення, - це передопераційна радіохірургія з подальшою хірургічною резекцією пухлини протягом 24 годин. Доступні обмежені дані ретроспективних досліджень показали переваги передопераційної СРХ, включаючи більш низькі показники місцевої токсичності, прогресування і високий відсоток контролю росту, який можна порівняти з ад'ювантною стереотаксичною променевою терапією.

Передопераційна СРХ – це нова парадигма комбінованого лікування. Слід відмітити, що вона має такі переваги у порівнянні з післяопераційною радіохірургією або гіпофракціонованою променевою терапією ложа пухлини після операції.

По-перше, ймовірність «гарної відповіді» на радіохірургію може бути вище через збереження васкуляризації і відсутності післяопераційної гіпоксичної порожнини.

По-друге, окреслити інтактне вогнище пухлини значно простіше, ніж окреслити післяопераційну порожнину з неясною локалізацією і об'ємом залишкової пухлини за даними МРТ.

По-третє, оскільки пухлина підлягає подальшій повній або майже повній резекції, доза опромінення може бути не зменшена в залежності від об'єму ураження. Це може поліпшити місцевий контроль і допомогти знизити ризик радіаційної токсичності. Додатковою перевагою є можливість одночасного радикального радіохірургічного лікування супутніх зон пухлинного відсіву.

Результати лікування через 3 роки: місцевий рецидив пухлини в п/о порожнині ГБМ – один випадок (7,0%); лептоменінгеальний відсів – відсутній; симптоматичний радіонекроз (СРН) – відсутній. Медіана загальної виживаності становила у хворих з гліобластомою 20 місяців, медіана річної загальної виживаності склала 76,4%.

Ознаки локального рецидиву в основній групі визначалися протягом 24 місяців у 3 пацієнтів (9,37%). У всіх випадках повторно було проведено СРХ.

Ознаки локального рецидиву у контрольній групі визначалися протягом 12 місяців у 8 пацієнтів (25,0%). У 4 випадках була повторно проведена СРХ, у 2 – хірургічна резекція, та у 2 – опромінення всього головного мозку.

Таким чином, можна стверджувати, що передопераційна СРХ забезпечує чудовий локальний контроль при лікуванні гліобластоми з дуже низьким ризиком радіонекрозу. Впровадження новітніх розробок дозволяє на дорадіохірургічному та доопераційному етапі визначити ступінь ризику виникнення неврологічного дефіциту, оптимізувати тактику лікування. Також передопераційна СРХ дозволяє зменшити ймовірність локального рецидиву та збільшить безрецидивну та загальну виживаність. Крім того, зниження експресії PTEN є негативним прогностичним маркером виживання, а також маркером відповіді на специфічну терапію, а зниження рівня експресії гену MGMT в тканині пухлини головного мозку при передопераційному стереотаксичному опроміненні може мати позитивне значення для подальшого лікування. Найбільш значимі зміни в рівні показників клітинного імунітету, які спостерігаються при гліобластомах, характеризуються збільшенням кількості хелперних (CD-4) та цитотоксичних (CD-8) клітин в порівнянні з іншими хворими та даними групи порівняння. Характерною особливістю гліобластоми є те, що при даній патології виникають часткові зміни в різних ланках імунітету. Так, при зниженні мієлопероксидазної активності нейтрофілів, знижений рівень IgM в крові та В-лімфоцитів, що свідчить про дисбаланс у функціонуванні імунної системи, який потрібно діагностувати для попередження ускладнень імунної природи на кожному етапі комбінованого лікування.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі згідно проведеного дослідження представлено вирішення актуального завдання радіаційної онкології – підвищення ефективності променевого лікування хворих на гліобластому. Розроблено методику комбінованого лікування рецидивної мультиформної гліобластоми.

1. Розроблена програма і методика радіохірургічного лікування гліобластом із застосуванням передопераційної СРХ і радіосенсибілізації. Програма включає кількість фракцій опромінення, разову дозу за фракцію, сумарну передопераційну дозу в залежності від об'єму і локалізації пухлини з урахуванням показників альфа/бета, BED і дози на критичні структури головного мозку. Опромінення здійснюється з 5 напрямків за методикою Dyp Arc і з 8 напрямків за методикою IMRT, а також застосовується комбіноване опромінення Dyp Arc + IMRT.

2. При передопераційній СРХ гліобластом з використанням радіосенсибілізації (метронідазол, німоразол, кисень) досягнуто у 2,5 рази підвищення середньої загальної виживаності і загальної безрецидивної виживаності. Показник СЗВ становить $28,7 \pm 1,6$ (95% ДІ: 25,5-31,9) місяців проти $11,3 \pm 0,63$ (95% ДІ: 10,1-12,6) місяців в контрольній групі ($p < 0,0001$). ЗБВ складає $20,4 \pm 1,0$ (95% ДІ: 18,3-22,4) місяців проти $8,3 \pm 0,4$ (95% ДІ: 7,4-9,2) місяця в контрольній групі ($p < 0,0001$). Радіохірургічне лікування агресивних рецидивних мультиформних гліобластом з радіосенсибілізацією киснем також у 2 рази покращує ефективність лікування. СЗВ дорівнює $20,8 \pm 1,3$ (95% ДІ: 18,3-23,4) місяців проти $11,3 \pm 0,63$ (95% ДІ: 10,1-12,6) місяців у контрольній групі ($p < 0,0001$). ЗБВ становить $18,9 \pm 1,1$ (95% ДІ: 16,3-22,7) місяців проти $8,3 \pm 0,4$ (95% ДІ: 7,4-9,2) місяця в контрольній групі ($p < 0,0001$).

3. Обґрунтовано алгоритм діагностичного супроводу при радіохірургічному лікуванні гліобластоми. Контрольні МРТ дослідження установлені в наступні строки: через тиждень, чотири і шість тижнів та через три місяці після радіохірургічного лікування. Подальше спостереження через

кожні три місяці – локальний контроль пухлини. Терміни обумовлені ранньою відповіддю пухлини на лікування. Через тиждень діагностовано зменшення об'єму пухлини у 67% хворих, через 4 тижні – у 83,3% пацієнтів. Ці дані підтверджують сприятливий прогноз і успішність лікування. У хворих контрольної групи рання відповідь відсутня. Повна відповідь пухлини відмічена в строки через 6 тижнів і три місяці.

4. Ефективність передопераційної радіохірургії оцінювали за показниками СЗВ, СБВ в залежності від підведеної дози на пухлину (<17Гр, >17Гр), об'єму пухлини (>2,9 см³, <2,9 см³), локального рециду, радіонекрозу. СЗВ при поглиненій дозі >17 Гр становила 31,7±1,5 (95% ДІ: 28,6-34,8) місяців проти 11,3±0,78 (95% ДІ: 9,8-12,8) місяців у контрольній групі (p<0,0001). СБВ склала 22,3±0,9 (95% ДІ: 20,4-24,3) місяців проти 8,5±0,5 (95% ДІ: 7,4-9,6) місяців у контрольній групі (p<0,0001). При поглиненій дозі <17 Гр СЗВ становила 15,8±2,2 (95% ДІ: 11,5-20,2) місяців проти 10,9±0,8 (95% ДІ: 9,2-12,5) місяців у контрольній групі (p<0,0001). СБВ склала 11,4±1,4 (95% ДІ: 8,7-14,2) місяців проти 7,5±0,5 (95% ДІ: 6,3-8,6) місяців у контрольній групі (p<0,0001). При об'ємі пухлини >2,9 см³ СЗВ дорівнювала 21,8±2,2 (95% ДІ: 17,4-26,1) місяця, в контрольній групі – 10,3±0,6 (95% ДІ: 9,0-11,7) місяців (p<0,0001). СБВ становила 14,7±1,1 (95% ДІ: 12,4-17,0) місяців проти 7,6±0,4 (95% ДІ: 6,6-8,6) в контрольній групі (p<0,0001). При об'ємі пухлини <2,9 см³ СЗВ склала 29,5±1,8 (95% ДІ: 25,9-33,2) місяців і 11,8±0,8 (95% ДІ: 10,1-13,5) місяців в контрольній групі (p<0,0001). СБВ становила 20,8±1,2 (95% ДІ: 18,5-23,2) місяця проти 8,5±0,6 (95% ДІ: 7,3-9,8) місяців у контрольній групі (p<0,0001). Локальний рецидив в основній групі протягом 24 місяців спостереження діагностовано у 9,37%, в контрольній групі протягом 12 місяців спостереження – у 25% випадків. Радіонекроз виник у досліджувальній групі у 6,06% хворих, а в контрольній групі – у 12,5% пацієнтів (p<0,002).

5. Для прогнозування ефективності передопераційного радіохірургічного лікування гліобластом за імунологічними показниками враховуємо клітинну, гуморальну і фагоцитарну ланки імунітету. В клітинній

ланці імунного статусу виявлений дисбаланс в складі CD -3,4,8 Т-лімфоцитів та 19 В-лімфоцитів, а саме – підвищений рівень Т-лімфоцитів і знижений рівень CD-19 В-лімфоцитів. Для показників гуморального імунітету характерний підвищений рівень Ig G та Ig A, тоді як Ig M на стабільному рівні. Разом з тим, рівень Ig G та Ig M знижується при рецидивних гліобlastомах. Відхилення у фагоцитарній ланці імунітету незначні. Таким чином, показники імунітету статистично не достовірні ($p > 0,05$) і відповідно проводити прогнозування ефективності передопераційної радіохірургії за цими показниками неможливо і недоцільно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Davis M.E. Glioblastoma: Overview of Disease and Treatment. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 2016;20:S2–S8. doi: 10.1188/16.CJON.S1.2-8.
2. Gilbert M., Wang M., Aldape K.D., Stupp R., Hegi M., Jaeckle K.A., Armstrong T.S., Wefel J.S., Won M., Blumenthal D.T., et al. Dose-Dense Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma: A Randomized Phase III Clinical Trial. *J. Clin. Oncol.* 2013;31:4085–4091. doi: 10.1200/JCO.2013.49.6968.
3. Stupp R., Taillibert S., Kanner A.A., Kesari S., Steinberg D.M., Toms S.A., Taylor L.P., Lieberman F., Silvani A., Fink K.L., et al. Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma. *JAMA.* 2015;314:2535–2543. doi: 10.1001/jama.2015.16669.
4. Stupp R., Hegi M., Gorlia T., Erridge S.C., Perry J., Hong Y.-K., Aldape K.D., Lhermitte B., Pietsch T., Grujicic D., et al. Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15:1100–1108. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70379-1.
5. Stupp R., Taillibert S., Kanner A., Read W., Steinberg D.M., Lhermitte B., Toms S., Idbaih A., Ahluwalia M.S., Fink K., et al. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma. *JAMA.* 2017;318:2306–2316. doi: 10.1001/jama.2017.18718.
6. Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S., Wefel J.S., Blumenthal D.T., Vogelbaum M.A., Colman H., Chakravarti A., Pugh S., Won M., et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2014;370:699–708. doi: 10.1056/NEJMoa1308573.
7. Reardon D.A., Brandes A.A., Omuro A., Mulholland P., Lim M., Wick A., Baehring J., Ahluwalia M.S., Roth P., Bähr O., et al. Effect of Nivolumab vs

- Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma. *JAMA Oncol.* 2020;6:1–8. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.1024.
8. Chinot O., Wick W., Mason W., Henriksson R., Saran F., Nishikawa R., Carpentier A.F., Hoang-Xuan K., Kavan P., Cernea D., et al. Bevacizumab plus Radiotherapy–Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2014;370:709–722. doi: 10.1056/NEJMoa1308345.
 9. Mandel J., Yust-Katz S., Patel A.J., Cachia D., Liu D., Park M., Yuan Y., A Kent T., De Groot J.F. Inability of positive phase II clinical trials of investigational treatments to subsequently predict positive phase III clinical trials in glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2017;20:113–122. doi: 10.1093/neuonc/nox144.
 10. Castillo M. History and Evolution of Brain Tumor Imaging: Insights through Radiology. *Radiology.* 2014;273:111–125. doi: 10.1148/radiol.14140130.
 11. Ostrom Q.T., Gittleman H., Fulop J., Liu M., Blanda R., Kromer C., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008–2012. *Neuro Oncol.* 2015;17:iv1–iv62. doi: 10.1093/neuonc/nov189.
 12. Yanagihara T.K., Wang T. Diffusion-weighted imaging of the brain for glioblastoma: Implications for radiation oncology. *Appl. Radiat. Oncol.* 2014;5–13.
 13. Schmainda K.M. Diffusion-weighted MRI as a biomarker for treatment response in glioma. *CNS Oncol.* 2012;1:169–180. doi: 10.2217/cns.12.25.
 14. Kalpathy-Cramer J., Gerstner E.R., Emblem K., Andronesi O.C., Rosen B. Advanced Magnetic Resonance Imaging of the Physical Processes in Human Glioblastoma. *Cancer Res.* 2014;74:4622–4637. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0383.
 15. Van Dijken B.R., Van Laar P.J., Smits M., Dankbaar J.W., Enting R.H., Van Der Hoorn A. Perfusion MRI in treatment evaluation of glioblastomas: Clinical relevance of current and future techniques. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2018;49:11–22. doi: 10.1002/jmri.26306.

16. Andronesi O.C., Esmaeili M., Borra R.J.H., Emblem K., Gerstner E.R., Pinho M.C., Plotkin S.R., Chi A.S., Eichler A.F., Dietrich J., et al. Early changes in glioblastoma metabolism measured by MR spectroscopic imaging during combination of anti-angiogenic cediranib and chemoradiation therapy are associated with survival. *NPJ Precis. Oncol.* 2017;1:20. doi: 10.1038/s41698-017-0020-3.
17. Arias-Ramos N., Ferrer-Font L., Lope-Piedrafita S., Mocioiu V., Julià-Sapé M., Pumarola M., Arús C., Candiota A.P. Metabolomics of Therapy Response in Preclinical Glioblastoma: A Multi-Slice MRSI-Based Volumetric Analysis for Noninvasive Assessment of Temozolomide Treatment. *Metabolites.* 2017;7:20. doi: 10.3390/metabo7020020.
18. Laprie A., Ken S., Filleron T., Lubrano V., Vieilleveigne L., Tensaouti F., Catalaa I., Boetto S., Khalifa J., Attal J., et al. Dose-painting multicenter phase III trial in newly diagnosed glioblastoma: the SPECTRO-GLIO trial comparing arm A standard radiochemotherapy to arm B radiochemotherapy with simultaneous integrated boost guided by MR spectroscopic imaging. *BMC Cancer.* 2019;19:167. doi: 10.1186/s12885-019-5317-x.
19. Chaddad A., Kucharczyk M.J., Daniel P., Sabri S., Jean-Claude B.J., Niazi T., Abdulkarim B. Radiomics in Glioblastoma: Current Status and Challenges Facing Clinical Implementation. *Front. Oncol.* 2019;9:374. doi: 10.3389/fonc.2019.00374.
20. Chen C., Ou X., Wang J., Guo W., Ma X. Radiomics-Based Machine Learning in Differentiation Between Glioblastoma and Metastatic Brain Tumors. *Front. Oncol.* 2019;9:806. doi: 10.3389/fonc.2019.00806.
21. Wolbers J.G. Novel strategies in glioblastoma surgery aim at safe, supra-maximum resection in conjunction with local therapies. *Chin. J. Cancer.* 2014;33:8–15. doi: 10.5732/cjc.013.10219.
22. Li Y.M., Suki D., Hess K., Sawaya R. The influence of maximum safe resection of glioblastoma on survival in 1229 patients: Can we do better than gross-total resection? *J. Neurosurg.* 2016;124:977–988. doi: 10.3171/2015.5.JNS142087.

23. Fernandes C., Costa A., Osório L., Lago R.C., Linhares P., Carvalho B., Caeiro C., De Vleeschouwer S. Current Standards of Care in Glioblastoma Therapy. In: De Vleeschouwer S., editor. *Glioblastoma*. Codon Publications; Brisbane, Australia: 2017. pp. 197–241.
24. Herrlinger U., Tzaridis T., Mack F., Steinbach J.P., Schlegel U., Sabel M., Hau P., Kortmann R.-D., Krex D., Grauer O., et al. Lomustine-temozolomide combination therapy versus standard temozolomide therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated *MGMT* promoter (CeTeG/NOA09): A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393:678–688. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31791-4.
25. Suchorska B., Weller M., Tabatabai G., Senft C., Hau P., Sabel M.C., Herrlinger U., Ketter R., Schlegel U., Marosi C., et al. Complete resection of contrast-enhancing tumor volume is associated with improved survival in recurrent glioblastoma—results from the DIRECTOR trial. *Neuro Oncol*. 2016;18:549–556. doi: 10.1093/neuonc/nov326.
26. Weller M., Le Rhun E., Preusser M., Tonn J.-C., Roth P. How we treat glioblastoma. *ESMO Open*. 2019;4:e000520. doi: 10.1136/esmoopen-2019-000520.
27. Gramatzki D., Roth P., Rushing E., Weller J., Andratschke N., Hofer S., Korol D., Regli L., Pangalu A., Pless M., et al. Bevacizumab may improve quality of life, but not overall survival in glioblastoma: An epidemiological study. *Ann. Oncol*. 2018;29:1431–1436. doi: 10.1093/annonc/mdy106.
28. Wick W., Gorlia T., Bendszus M., Taphoorn M., Sahm F., Harting I., Brandes A.A., Taal W., Domont J., Idbaih A., et al. Lomustine and Bevacizumab in Progressive Glioblastoma. *N. Engl. J. Med*. 2017;377:1954–1963. doi: 10.1056/NEJMoa1707358.
29. Halasz L.M., Soltys S.G., Breneman J.C., Chan M.D., Laack N.N., Minniti G., Kirkpatrick J. Treatment of Gliomas: A Changing Landscape. *Int. J. Radiat. Oncol*. 2017;98:255–258. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.02.223.

30. Briere T.M., McAleer M.F., Levy L.B., Yang J.N. Sparing of normal tissues with volumetric arc radiation therapy for glioblastoma: single institution clinical experience. *Radiat. Oncol.* 2017;12:79. doi: 10.1186/s13014-017-0810-3.
31. Wang T.J.C., Wu C.-C., Jani A., Estrada J., Ung T., Chow D., Soun J.E., Saad S., Qureshi Y.H., Gartrell R., et al. Hypofractionated radiation therapy versus standard fractionated radiation therapy with concurrent temozolomide in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma. *Pr. Radiat. Oncol.* 2016;6:306–314. doi: 10.1016/j.prro.2015.12.001.
32. Cordova J.S., Shu H.-K.G., Liang Z., Gurbani S.S., Cooper L.A.D., Holder C.A., Olson J.J., Kairdolf B., Schreibmann E., Neill S.G., et al. Whole-brain spectroscopic MRI biomarkers identify infiltrating margins in glioblastoma patients. *Neuro Oncol.* 2016;18:1180–1189. doi: 10.1093/neuonc/now036.
33. Cao Y., Tseng C.-L., Balter J.M., Teng F., Parmar H.A., Sahgal A. MR-guided radiation therapy: transformative technology and its role in the central nervous system. *Neuro Oncol.* 2017;19:ii16–ii29. doi: 10.1093/neuonc/nox006.
34. Schiffer D., Annovazzi L., Mazzucco M., Mellai M. The Microenvironment in Gliomas: Phenotypic Expressions. *Cancers.* 2015;7:2352–2359. doi: 10.3390/cancers7040896.
35. Schiffer D., Annovazzi L., Casalone C., Corona C., Mellai M. Glioblastoma: Microenvironment and Niche Concept. *Cancers.* 2018;11:5. doi: 10.3390/cancers11010005.
36. Farace C., Oliver J.A., Melguizo C., Alvarez P., Bandiera P., Rama A.R., Malaguarnera G., Ortiz R., Madeddu R., Prados J. Microenvironmental Modulation of Decorin and Lumican in Temozolomide-Resistant Glioblastoma and Neuroblastoma Cancer Stem-Like Cells. *PLoS ONE.* 2015;10:e0134111. doi: 10.1371/journal.pone.0134111.
37. Fidoamore A., Cristiano L., Antonosante A., D'Angelo M., Di Giacomo E., Astarita C., Giordano A., Ippoliti R., Benedetti E., Cimini A. Glioblastoma Stem Cells Microenvironment: The Paracrine Roles of the Niche in Drug and Radioresistance. *Stem Cells Int.* 2016;2016:1–17. doi: 10.1155/2016/6809105.

38. Muz B., De La Puente P., Azab F., Azab A.K. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. *Hypoxia*. 2015;3:83–92. doi: 10.2147/HP.S93413.
39. Li Z., Bao S., Wu Q., Wang H., Eyler C., Sathornsumetee S., Shi Q., Cao Y., Lathia J., McLendon R.E., et al. Hypoxia-Inducible Factors Regulate Tumorigenic Capacity of Glioma Stem Cells. *Cancer Cell*. 2009;15:501–513. doi: 10.1016/j.ccr.2009.03.018.
40. Marampon F., Gravina G.L., Zani B., Popov V.M., Fratticci A., Cerasani M., Di Genova D., Mancini M., Ciccarelli C., Ficorella C., et al. Hypoxia sustains glioblastoma radioresistance through ERKs/DNA-PKcs/HIF-1 α functional interplay. *Int. J. Oncol.* 2014;44:2121–2131. doi: 10.3892/ijo.2014.2358.
41. Covello K.L., Kehler J., Yu H., Gordan J.D., Arsham A.M., Hu C.-J., Labosky P.A., Simon M.C., Keith B. HIF-2 regulates Oct-4: effects of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth. *Genes Dev.* 2006;20:557–570. doi: 10.1101/gad.1399906.
42. Li P., Zhou C., Xu L., Xiao H. Hypoxia Enhances Stemness of Cancer Stem Cells in Glioblastoma: An In Vitro Study. *Int. J. Med. Sci.* 2013;10:399–407. doi: 10.7150/ijms.5407.
43. Michiels C., Tellier C., Feron O. Cycling hypoxia: A key feature of the tumor microenvironment. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016;1866:76–86. doi: 10.1016/j.bbcan.2016.06.004.
44. Gérard M., Corroyer-Dulmont A., Lesueur P., Collet S., Chérel M., Bourgeois M., Stefan D., Limkin E.J., Perrio C., Guillamo J.-S., et al. Hypoxia Imaging and Adaptive Radiotherapy: A State-of-the-Art Approach in the Management of Glioma. *Front. Med.* 2019;6:117. doi: 10.3389/fmed.2019.00117.
45. Venneti S., Thompson C.B. Metabolic Reprogramming in Brain Tumors. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2017;12:515–545. doi: 10.1146/annurev-pathol-012615-044329.
46. Hsieh C.-H., Lee C.-H., Liang J.-A., Yu C.-Y., Shyu W.-C. Cycling hypoxia increases U87 glioma cell radioresistance via ROS induced higher and long-term

- HIF-1 signal transduction activity. *Oncol. Rep.* 2010;24:1629–1636. doi: 10.3892/or_00001027.
47. McGee M.C., Hamner J.B., Williams R.F., Rosati S.F., Sims T.L., Ng C.Y., Gaber M.W., Calabrese C., Wu J., Nathwani A.C., et al. Improved Intratumoral Oxygenation Through Vascular Normalization Increases Glioma Sensitivity to Ionizing Radiation. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2010;76:1537–1545. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.12.010.
48. Zhou W., Wahl D.R. Metabolic Abnormalities in Glioblastoma and Metabolic Strategies to Overcome Treatment Resistance. *Cancers.* 2019;11:1231. doi: 10.3390/cancers11091231.
49. Libby C.J., Tran A.N., Scott S.E., Griguer C., Hjelmeland A.B. The pro-tumorigenic effects of metabolic alterations in glioblastoma including brain tumor initiating cells. *Biochim Biophys Acta Rev. Cancer.* 2018;1869:175–188. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.01.004.
50. Duman C., Yaqubi K., Hoffmann A., Acikgöz A.A., Korshunov A., Bendszus M., Herold-Mende C., Liu H.-K., Alfonso J. Acyl-CoA-Binding Protein Drives Glioblastoma Tumorigenesis by Sustaining Fatty Acid Oxidation. *Cell Metab.* 2019;30:274–289.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2019.04.004.
51. Oliva C.R., Markert T., Ross L.J., White E.L., Rasmussen L., Zhang W., Everts M., Moellering D., Bailey S.M., Suto M.J., et al. Identification of Small Molecule Inhibitors of Human Cytochrome c Oxidase That Target Chemoresistant Glioma Cells. *J. Biol. Chem.* 2016;291:24188–24199. doi: 10.1074/jbc.M116.749978.
52. Oliva C.R., Zhang W., Langford C., Suto M.J., Griguer C.E. Repositioning chlorpromazine for treating chemoresistant glioma through the inhibition of cytochrome c oxidase bearing the COX4-1 regulatory subunit. *Oncotarget.* 2017;8:37568–37583. doi: 10.18632/oncotarget.17247.
53. Oliva C.R., Halloran B., Hjelmeland A.B., Vazquez A., Bailey S.M., Sarkaria J.N., Griguer C.E. Griguer, IGF2/IGF-1R signaling. *Cell Commun. Signal.* 2018;16:61. doi: 10.1186/s12964-018-0273-7.

54. Vartanian A., Agnihotri S., Wilson M.R., Burrell K.E., Tonge P.D., Alamsahebpour A., Jalali S., Taccone M.S., Mansouri S., Golbourn B., et al. Targeting hexokinase 2 enhances response to radio-chemotherapy in glioblastoma. *Oncotarget*. 2016;7:69518–69535. doi: 10.18632/oncotarget.11680.
55. Calvert A.E., Chalastanis A., Wu Y., Hurley L.A., Kouri F.M., Bi Y., Kachman M., May J.L., Bartom E.T., Hua Y., et al. Cancer-Associated IDH1 Promotes Growth and Resistance to Targeted Therapies in the Absence of Mutation. *Cell Rep*. 2017;19:1858–1873. doi: 10.1016/j.celrep.2017.05.014.
56. Wahl D.R., Dresser J., Wilder-Romans K., Parsels J.D., Zhao S.G., Davis M., Zhao L., Kachman M., Wernisch S., Burant C.F., et al. Glioblastoma Therapy Can Be Augmented by Targeting IDH1-Mediated NADPH Biosynthesis. *Cancer Res*. 2016;77:960–970. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2008.
57. Stanzani E., Martínez-Soler F., Mateos T.M., Vidal N., Villanueva A., Pujana M.A., Serra-Musach J., De La Iglesia N., Giménez-Bonafé P., Tortosa A. Radioresistance of mesenchymal glioblastoma initiating cells correlates with patient outcome and is associated with activation of inflammatory program. *Oncotarget*. 2017;8:73640–73653. doi: 10.18632/oncotarget.18363.
58. Lopez-Bertoni H., Lal B., Li A., Caplan M., Guerrero-Cazares H., Eberhart C.G., Quiñones-Hinojosa A., Gläß M., Scheffler B., Lattera J., et al. DNMT-dependent suppression of microRNA regulates the induction of GBM tumor-propagating phenotype by Oct4 and Sox2. *Oncogene*. 2014;34:3994–4004. doi: 10.1038/onc.2014.334.
59. Suvà M.L., Rheinbay E., Gillespie S.M., Patel A.P., Wakimoto H., Rabkin S., Riggi N., Chi A.S., Cahill D., Nahed B.V., et al. Reconstructing and reprogramming the tumor-propagating potential of glioblastoma stem-like cells. *Cell*. 2014;157:580–594. doi: 10.1016/j.cell.2014.02.030.
60. Ong D.S.T., Hu B., Ho Y.W., Sauvé C.-E.G., Bristow C.A., Wang Q., Multani A.S., Chen P., Nezi L., Jiang S., et al. PAF promotes stemness and radioresistance of glioma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017;114:E9086–E9095. doi: 10.1073/pnas.1708122114.

61. Wang W., Long L., Wang L., Tan C., Fei X., Chen L., Huang Q., Liang Z.-Q. Knockdown of Cathepsin L promotes radiosensitivity of glioma stem cells both in vivo and in vitro. *Cancer Lett.* 2016;371:274–284.
62. Friedmann-Morvinski D. Glioblastoma Heterogeneity and Cancer Cell Plasticity. *Crit. Rev. Oncog.* 2014;19:327–336. doi: 10.1615/CritRevOncog.2014011777.
63. Patel A.P., Tirosh I., Trombetta J.J., Shalek A.K., Gillespie S.M., Wakimoto H., Cahill D., Nahed B.V., Curry W.T., Martuza R.L., et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. *Science.* 2014;344:1396–1401. doi: 10.1126/science.1254257.
64. Soeda A., Hara A., Kunisada T., Yoshimura S.-I., Iwama T., Park D.M. The Evidence of Glioblastoma Heterogeneity. *Sci. Rep.* 2015;5:7979. doi: 10.1038/srep07979.
65. Zalcberg I.R., Golgher D. Molecular Genetics of Glioblastomas. *Neuroimaging Clin. N. Am.* 2015;25:97–103.
66. Meyer M., Reimand J., Lan X., Head R., Zhu X., Kushida M., Bayani J., Pressey J.C., Lionel A.C., Clarke I.D., et al. Single cell-derived clonal analysis of human glioblastoma links functional and genomic heterogeneity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112:851–856. doi: 10.1073/pnas.1320611111.
67. Wang Q., Hu B., Hu X., Kim H., Squatrito M., Scarpace L., Decarvalho A.C., Lyu S., Li P., Li Y., et al. Tumor Evolution of Glioma-Intrinsic Gene Expression Subtypes Associates with Immunological Changes in the Microenvironment. *Cancer Cell.* 2017;32:42–56.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2017.06.003.
68. Zhang C., Moore L.M., Li X., Yung W.K., Zhang W. IDH1/2 mutations target a key hallmark of cancer by deregulating cellular metabolism in glioma. *Neuro Oncol.* 2013;15:1114–1126. doi: 10.1093/neuonc/not087.
69. Yin N., Xie T., Zhang H., Chen J., Yu J., Liu F. IDH1-R132H mutation radiosensitizes U87MG glioma cells via epigenetic downregulation of TIGAR. *Oncol. Lett.* 2019;19:1322–1330. doi: 10.3892/ol.2019.11148.
70. Yang P., Zhang W., Wang Y., Peng X., Chen B., Qiu X., Li G., Li S., Wu C., Yao K., et al. IDH mutation and MGMT promoter methylation in glioblastoma: results

- of a prospective registry. *Oncotarget*. 2015;6:40896–40906. doi: 10.18632/oncotarget.5683.
71. Molenaar R.J., Verbaan D., Lamba S., Zanon C., Jeuken J.W., Boots-Sprenger S.H., Wesseling P., Hulsebos T.J., Troost D., Van Tilborg A.A., et al. The combination of IDH1 mutations and MGMT methylation status predicts survival in glioblastoma better than either IDH1 or MGMT alone. *Neuro Oncol*. 2014;16:1263–1273. doi: 10.1093/neuonc/nou005.
72. Banelli B., Forlani A., Allemanni G., Morabito A., Pistillo M.P., Romani M. MicroRNA in Glioblastoma: An Overview. *Int. J. Genom*. 2017;2017:1–16. doi: 10.1155/2017/7639084.
73. Sana J., Busek P., Fadrus P., Besse A., Radova L., Vecera M., Reguli S., Sromova L.S., Hilser M., Lipina R., et al. Identification of microRNAs differentially expressed in glioblastoma stem-like cells and their association with patient survival. *Sci. Rep*. 2018;8:2836. doi: 10.1038/s41598-018-20929-6.
74. Marampon F., Megiorni F., Camero S., Crescioli C., McDowell H.P., Sferra R., Vetuschi A., Pompili S., Ventura L., De Felice F., et al. HDAC4 and HDAC6 sustain DNA double strand break repair and stem-like phenotype by promoting radioresistance in glioblastoma cells. *Cancer Lett*. 2017;397:1–11. doi: 10.1016/j.canlet.2017.03.028.
75. Kowalski-Chauvel A., Modesto A., Gouazé-Andersson V., Baricault L., Gilhodes J., Delmas C., Lemarié A., Toulas C., Cohen-Jonathan-Moyal E., Seva C. Alpha-6 integrin promotes radioresistance of glioblastoma by modulating DNA damage response and the transcription factor Zeb1. *Cell Death Dis*. 2018;9:872. doi: 10.1038/s41419-018-0853-x.
76. Oliva C.R., Markert T., Gillespie G.Y., Griguer C.E. Nuclear-encoded cytochrome c oxidase subunit 4 regulates BMI1 expression and determines proliferative capacity of high-grade gliomas. *Oncotarget*. 2015;6:4330–4344. doi: 10.18632/oncotarget.3015.
77. Han X., Xue X., Zhou H., Zhang G. A molecular view of the radioresistance of gliomas. *Oncotarget*. 2017;8:100931–100941. doi: 10.18632/oncotarget.21753.

- 78.Xie B., Zhang L., Hu W., Fan M., Jiang N., Duan Y., Jing D., Xiao W., Fragoso R.C., Lam K.S., et al. Dual blockage of STAT3 and ERK1/2 eliminates radioresistant GBM cells. *Redox Biol.* 2019;24:101189. doi: 10.1016/j.redox.2019.101189.
79. Lee Y., Kim K.H., Kim D.G., Cho H.J., Kim Y., Rhee J., Shin K., Seo Y.J., Choi Y.-S., Lee J.-I., et al. FoxM1 Promotes Stemness and Radio-Resistance of Glioblastoma by Regulating the Master Stem Cell Regulator Sox2. *PLoS ONE*. 2015;10:e0137703. doi: 10.1371/journal.pone.0137703.
- 80.Maachani U.B., Shankavaram U., Kramp T., Tofilon P.J., Camphausen K., Tandle A.T. FOXM1 and STAT3 interaction confers radioresistance in glioblastoma cells. *Oncotarget*. 2016;7:77365–77377. doi: 10.18632/oncotarget.12670.
- 81.Rey S., Schito L., Koritzinsky M., Wouters B. Molecular targeting of hypoxia in radiotherapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017;109:45–62. doi: 10.1016/j.addr.2016.10.002.
- 82.Barker H.E., Paget J.T.E., Khan A.A., Harrington K.J. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nat. Rev. Cancer*. 2015;15:409–425. doi: 10.1038/nrc3958.
- 83.Overgaard J., Hansen H.S., Andersen A., Hjelm-Hansen M., Jørgensen K., Sandberg E., Berthelsen A., Hammer R., Pedersen M. Misonidazole combined with split-course radiotherapy in the treatment of invasive carcinoma of larynx and pharynx: Report from the DAHANCA 2 study. *Int. J. Radiat. Oncol.* 1989;16:1065–1068. doi: 10.1016/0360-3016(89)90917-6.
- 84.Takaoka T., Shibamoto Y., Matsuo M., Sugie C., Murai T., Ogawa Y., Miyakawa A., Manabe Y., Kondo T., Nakajima K., et al. Biological effects of hydrogen peroxide administered intratumorally with or without irradiation in murine tumors. *Cancer Sci.* 2017;108:1787–1792. doi: 10.1111/cas.13302.
- 85.Gallez B., Neveu M.-A., Danhier P., Jordan B.F. Manipulation of tumor oxygenation and radiosensitivity through modification of cell respiration. A critical review of approaches and imaging biomarkers for therapeutic

- guidance. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 2017;1858:700–711. doi: 10.1016/j.bbabbio.2017.01.002.
86. Benej M., Hong X., Vibhute S., Scott S., Wu J., Graves E., Le Q.-T., Koong A.C., Giaccia A.J., Yu B., et al. Papaverine and its derivatives radiosensitize solid tumors by inhibiting mitochondrial metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115:10756–10761. doi: 10.1073/pnas.1808945115.
87. Bayin N.S., Ma L., Placantonakis D.G., Barcellos-Hoff M.H. Evaluation of Radioresponse and Radiosensitizers in Glioblastoma Organotypic Cultures. In: Placantonakis D., editor. *Glioblastoma. Methods in Molecular Biology.* Volume 1741. Humana Press; New York, NY, USA: 2018. pp. 171–182.
88. Lesueur P., Chevalier F., El-Habr E., Junier M.-P., Chneiweiss H., Castéra L., Muller E., Stefan D., Saintigny Y. Radiosensitization Effect of Talazoparib, a Parp Inhibitor, on Glioblastoma Stem Cells Exposed to Low and High Linear Energy Transfer Radiation. *Sci. Rep.* 2018;8:1–12. doi: 10.1038/s41598-018-22022-4.
89. Narayan R.S., Gasol A., Slangen P.L., Cornelissen F.M., Lagerweij T., Veldman H.Y., Dik R., Berg J.V.D., Slotman B.J., Wurdinger T., et al. Identification of MEK162 as a Radiosensitizer for the Treatment of Glioblastoma. *Mol. Cancer Ther.* 2017;17:347–354. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0480.
90. Krauze A.V., Myrehaug S.D., Chang M.G., Holdford D.J., Smith S., Shih J., Tofilon P.J., Fine H.A., Camphausen K. A Phase 2 Study of Concurrent Radiation Therapy, Temozolomide, and the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid for Patients With Glioblastoma. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2015;92:986–992. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.04.038.
91. Chinnaiyan P., Won M., Wen P.Y., Rojiani A.M., Werner-Wasik M., Shih H.A., Ashby L.S., Yu H.-H.M., Stieber V., Malone S.C., et al. A randomized phase II study of everolimus in combination with chemoradiation in newly diagnosed glioblastoma: results of NRG Oncology RTOG 0913. *Neuro Oncol.* 2017;20:666–673. doi: 10.1093/neuonc/nox209.

92. Galanis E., Anderson S.K., Miller C.R., Sarkaria J.N., Jaeckle K., Buckner J.C., Ligon K.L., Ballman K.V., Moore D.F., Jr., Nebozhyn M., et al. Phase I/II trial of vorinostat combined with temozolomide and radiation therapy for newly diagnosed glioblastoma: results of Alliance N0874/ABTC 02. *Neuro Oncol.* 2018;20:546–556. doi: 10.1093/neuonc/nox161.
93. Kong X.-T., Nguyen N.T., Choi Y.J., Zhang G., Nguyen H.N., Filka E., Green S., Yong W.H., Liau L.M., Green R.M., et al. Phase 2 Study of Bortezomib Combined With Temozolomide and Regional Radiation Therapy for Upfront Treatment of Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma Multiforme: Safety and Efficacy Assessment. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2018;100:1195–1203. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.01.001.
94. Jue T.R., Nozue K., Lester A., Joshi S., Schroder L.B.W., Whittaker S.P., Nixdorf S., Rapkins R.W., Khasraw M., McDonald K.L. Veliparib in combination with radiotherapy for the treatment of MGMT unmethylated glioblastoma. *J. Transl. Med.* 2017;15:61. doi: 10.1186/s12967-017-1164-1.
95. Yan Y., Xu Z., Dai S., Qian L., Sun L.-Q., Gong Z. Targeting autophagy to sensitive glioma to temozolomide treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2016;35:23. doi: 10.1186/s13046-016-0303-5.
96. Ye H., Chen M., Cao F., Huang H., Zhan R., Zheng X. Chloroquine, an autophagy inhibitor, potentiates the radiosensitivity of glioma initiating cells by inhibiting autophagy and activating apoptosis. *BMC Neurol.* 2016;16:178. doi: 10.1186/s12883-016-0700-6.
97. Allen B.G., Bodeker K.L., Smith M.C., Monga V., Sandhu S., Hohl R.J., Carlisle T.L., Brown H., Hollenbeck N.J., Vollstedt S., et al. First-in-Human Phase I Clinical Trial of Pharmacologic Ascorbate Combined with Radiation and Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma. *Clin. Cancer Res.* 2019;25:6590–6597. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0594.
98. Oronsky B., Scicinski J., Ning S., Peehl D., Oronsky A., Cabrales P., Bednarski M., Knox S. RRx-001, A novel dinitroazetidine radiosensitizer. *Investig. New Drugs.* 2016;34:371–377. doi: 10.1007/s10637-016-0326-y.

99. Brachman D.G., Pugh S.L., Ashby L.S., Thomas T.A., Dunbar E.M., Narayan S., Robins H.I., Bovi J.A., Rockhill J.K., Won M., et al. Phase 1/2 trials of Temozolomide, Motexafin Gadolinium, and 60-Gy fractionated radiation for newly diagnosed supratentorial glioblastoma multiforme: final results of RTOG 0513. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2015;91:961–967. doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.12.050.
100. Graham K., Unger E.C. Overcoming tumor hypoxia as a barrier to radiotherapy, chemotherapy and immunotherapy in cancer treatment. *Int. J. Nanomed.* 2018;13:6049–6058. doi: 10.2147/IJN.S140462.
101. Gainer J.L., Sheehan J.P., Lerner J.M., Jones D.R. Trans sodium crocetinate with temozolomide and radiation therapy for glioblastoma multiforme. *J. Neurosurg.* 2017;126:460–466. doi: 10.3171/2016.3.JNS152693.
102. Kumthekar P., Grimm S., Chandler J., Mehta M., Marymont M., Levy R., Muro K., Helenowski I., McCarthy K., Fountas L., et al. A phase II trial of arsenic trioxide and temozolomide in combination with radiation therapy for patients with malignant gliomas. *J. Neurooncol.* 2017;133:589–594. doi: 10.1007/s11060-017-2469-x.
103. Bell J.B., Eckerdt F., Dhruv H.D., Finlay D., Peng S., Kim S., Kroczyńska B., Beauchamp E.M., Alley K., Clymer J., et al. Differential Response of Glioma Stem Cells to Arsenic Trioxide Therapy Is Regulated by MNK1 and mRNA Translation. *Mol. Cancer Res.* 2017;16:32–46. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-17-0397.
104. Whittaker S., Madani D., Joshi S., Chung A.S., Johns T., Day B., Khasraw M., McDonald K.L. Combination of palbociclib and radiotherapy for glioblastoma. *Cell Death Discov.* 2017;3:17033. doi: 10.1038/cddiscovery.2017.33.
105. Durant S.T., Zheng L., Wang Y., Chen K., Zhang L., Zhang T., Yang Z., Riches L., Trinidad A.G., Fok J.H.L., et al. The brain-penetrant clinical ATM inhibitor AZD1390 radiosensitizes and improves survival of preclinical brain tumor models. *Sci. Adv.* 2018;4:eaat1719. doi: 10.1126/sciadv.aat1719.

106. Compter I., Eekers D., Hoeben A., Rouschop K., Reymen B., Ackermans L., Beckervordersantforth J., Bauer N., Anten M., Wesseling P., et al. CHLOROBRAIN phase IB trial: The addition of chloroquine, an autophagy inhibitor, to concurrent radiation and temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *Ann. Oncol.* 2019;30:v154. doi: 10.1093/annonc/mdz243.035.
107. Dhani N, Fyles A, Hedley D, Milosevic M. The clinical significance of hypoxia in human cancers. *Semin Nucl Med.* 2015;**45**(2):110–121.
108. Zeng W, Liu P, Pan W, Singh SR, Wei Y. Hypoxia and hypoxia inducible factors in tumor metabolism. *Cancer Lett.* 2015;**356**(2 Pt A):263–267.
109. White DA, Zhang Z, Li L, et al. Developing oxygen-enhanced magnetic resonance imaging as a prognostic biomarker of radiation response. *Cancer Lett.* 2016;**380**(1):69–77.
110. Miller K.D., Ostrom Q.T., Kruchko C., Patil N., Tihan T., Cioffi G., Fuchs H.E., Waite K.A., Jemal A., Siegel R.L., et al. Brain and other central nervous system tumor statistics, 2021. *CA A Cancer J. Clin.* 2021;71:381–406. doi: 10.3322/caac.21693.
111. Singh R., Lehrer E.J., Wang M., Perlow H.K., Zaorsky N.G., Trifiletti D.M., Bovi J., Navarria P., Scoccianti S., Gondi V., et al. Dose Escalated Radiation Therapy for Glioblastoma Multiforme: An International Systematic Review and Meta-Analysis of 22 Prospective Trials. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2021;111:371–384. doi: 10.1016/j.ijrobp.2021.05.001.
112. Ruiz-Garcia H., Ramirez-Loera C., Malouff T.D., Seneviratne D.S., Palmer J.D., Trifiletti D.M. Novel Strategies for Nanoparticle-Based Radiosensitization in Glioblastoma. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:9673. doi: 10.3390/ijms22189673.
113. Stupp R., Taillibert S., Kanner A.A., Read W., Steinberg D.M., Lhermitte B., Toms S., Idbaih A., Ahluwalia M.S., Fink K., et al. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA J. Am. Med Assoc.* 2017;318:2306–2316. doi: 10.1001/jama.2017.18718.

114. Cantrell J.N., Waddle M.R., Rotman M., Peterson J.L., Ruiz-Garcia H., Heckman M.G., Quiñones-Hinojosa A., Rosenfeld S.S., Brown P.D., Trifiletti D.M. Progress Toward Long-Term Survivors of Glioblastoma. *Mayo Clin. Proc.* 2019;94:1278–1286. doi: 10.1016/j.mayocp.2018.11.031.
115. Brown P.D., Ballman K.V., Cerhan J.H., Anderson S.K., Carrero X.W., Whitton A.C., Greenspoon J., Parney I., I Laack N.N., Ashman J.B., et al. Postoperative stereotactic radiosurgery compared with whole brain radiotherapy for resected metastatic brain disease (NCCTG N107C/CEC·3): A multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18:1049–1060. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30441-2.
116. Sha C., Lehrer E.J., Hwang C., Trifiletti D.M., Mackley H.B., Drabick J.J., Zaorsky N.G. Toxicity in combination immune checkpoint inhibitor and radiation therapy: A systematic review and meta-analysis. *Radiother. Oncol.* 2020;151:141–148. doi: 10.1016/j.radonc.2020.07.035.
117. Lehrer E.J., McGee H., Sheehan J.P., Trifiletti D.M. Integration of immuno-oncology with stereotactic radiosurgery in the management of brain metastases. *J. Neuro-Oncol.* 2021;151:75–84. doi: 10.1007/s11060-020-03427-6.
118. Redmond K.J., Mehta M. Stereotactic Radiosurgery for Glioblastoma. *Cureus.* 2015;7:e413. doi: 10.7759/cureus.413.
119. Routman D.M., Yan E., Vora S., Peterson J., Mahajan A., Chaichana K.L., Laack N., Brown P.D., Parney I.F., Burns T.C., et al. Preoperative Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases. *Front. Neurol.* 2018;9:959. doi: 10.3389/fneur.2018.00959.
120. Hanif F., Muzaffar K., Perveen K., Malhi S.M., Simjee S.U. Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017;18:3–9. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.1.3.
121. Batash R., Asna N., Schaffer P., Francis N., Schaffer M. Glioblastoma Multiforme, Diagnosis and Treatment; Recent Literature Review. *Curr. Med. Chem.* 2017;24:3002–3009. doi: 10.2174/0929867324666170516123206.

122. Louis D.N., Perry A., Wesseling P., Brat D.J., A Cree I., Figarella-Branger D., Hawkins C., Ng H.K., Pfister S.M., Reifenberger G., et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Neuro-Oncol.* 2021;23:1231–1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
123. Tan A.C., Ashley D.M., López G.Y., Malinzak M., Friedman H.S., Khasraw M. Management of glioblastoma: State of the art and future directions. *CA Cancer J. Clin.* 2020;70:299–312. doi: 10.3322/caac.21613.
124. Molinaro A.M., Hervey-Jumper S., Morshed R.A., Young J., Han S.J., Chunduru P., Zhang Y., Phillips J.J., Shai A., Lafontaine M., et al. Association of Maximal Extent of Resection of Contrast-Enhanced and Non-Contrast-Enhanced Tumor With Survival Within Molecular Subgroups of Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma. *JAMA Oncol.* 2020;6:495–503. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.6143.
125. Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S., Wefel J.S., Blumenthal D.T., Vogelbaum M.A., Colman H., Chakravarti A., Pugh S., Won M., et al. A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2014;370:699–708. doi: 10.1056/NEJMoa1308573.
126. Akmal S., Ginalis E.E., Patel N.V., Aiken R., Dicipinigaitis A.J., Hanft S.J. Leptomeningeal disease in glioblastoma: Endgame or opportunity? *J. Neuro-Oncol.* 2021;155:107–115. doi: 10.1007/s11060-021-03864-x.
127. Lee Y., Auh S.L., Wang Y., Burnette B., Meng Y., Beckett M., Sharma R., Chin R., Tu T., Weichselbaum R.R., et al. Therapeutic effects of ablative radiation on local tumor require CD8+ T cells: Changing strategies for cancer treatment. *Blood.* 2009;114:589–595. doi: 10.1182/blood-2009-02-206870.
128. Eric J. Lehrer, Henry Ruiz-Garcia, Anthony D. Nehlsen, Kunal K. Sindhu, Rachel Sarabia Estrada, Gerben R. Borst,⁴Jason P. Sheehan, Alfredo Quinones-Hinojosa, and Daniel M. Trifiletti. Preoperative Stereotactic Radiosurgery for Glioblastoma. *Biology.* 2022;11(2);194:2-15. doi: 10.3390/biology11020194

129. Ostrom Q.T., Cioffi G., Gittleman H., Patil N., Waite K., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012–2016. *Neuro-Oncol.* 2019;21:v1–v100. doi: 10.1093/neuonc/noz150.
130. Miller K.D., Ostrom Q.T., Kruchko C., Patil N., Tihan T., Cioffi G., Fuchs H.E., Waite K.A., Jemal A., Siegel R.L., et al. Brain and other central nervous system tumor statistics, 2021. *CA A Cancer J. Clin.* 2021;71:381–406. doi: 10.3322/caac.21693.
131. Singh R., Lehrer E.J., Wang M., Perlow H.K., Zaorsky N.G., Trifiletti D.M., Bovi J., Navarria P., Scoccianti S., Gondi V., et al. Dose Escalated Radiation Therapy for Glioblastoma Multiforme: An International Systematic Review and Meta-Analysis of 22 Prospective Trials. *Int. J. Radiat. Oncol.* 2021;111:371–384. doi: 10.1016/j.ijrobp.2021.05.001.
132. Lehrer E.J., McGee H., Sheehan J.P., Trifiletti D.M. Integration of immuno-oncology with stereotactic radiosurgery in the management of brain metastases. *J. Neuro-Oncol.* 2021;151:75–84. doi: 10.1007/s11060-020-03427-6.
133. Akmal S., Ginalis E.E., Patel N.V., Aiken R., Dicipinigaitis A.J., Hanft S.J. Leptomeningeal disease in glioblastoma: Endgame or opportunity? *J. Neuro-Oncol.* 2021;155:107–115. doi: 10.1007/s11060-021-03864-x.
134. Vanpouille-Box C., Alard A., Aryankalayil M.J., Sarfraz Y., Diamond J.M., Schneider R.J., Inghirami G., Coleman C.N., Formenti S.C., DeMaria S. DNA exonuclease Trex1 regulates radiotherapy-induced tumour immunogenicity. *Nat. Commun.* 2017;8:15618. doi: 10.1038/ncomms15618.
135. Vanpouille-Box C., Diamond J.M., Pilonis K.A., Zavadil J., Babb J., Formenti S.C., Barcellos-Hoff M.H., DeMaria S. TGF β Is a Master Regulator of Radiation Therapy-Induced Antitumor Immunity. *Cancer Res.* 2015;75:2232–2242. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3511.
136. Vanpouille-Box C., Pilonis K.A., Wennerberg E., Formenti S.C., Demaria S. In situ vaccination by radiotherapy to improve responses to anti-CTLA-4 treatment. *Vaccine.* 2015;33:7415–7422. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.05.105.

137. Fabian D., Eibl M.D.P.G.P., Alnahhas I., Sebastian N., Giglio P., Puduvalli V., Gonzalez J., Palmer J.D. Treatment of Glioblastoma (GBM) with the Addition of Tumor-Treating Fields (TTF): A Review. *Cancers*. 2019;11:174. doi: 10.3390/cancers11020174.
138. Niyazi M., Brada M., Chalmers A.J., Combs S., Erridge S.C., Fiorentino A., Grosu A.L., Lagerwaard F.J., Minniti G., Mirimanoff R.-O., et al. ESTRO-ACROP guideline “target delineation of glioblastomas” *Radiother. Oncol.* 2016;118:35–42. doi: 10.1016/j.radonc.2015.12.003.
139. Zhang J, He Y, Shen X, Jiang D, Wang Q, Liu Q. et al. γ -H2AX responds to DNA damage induced by long-term exposure to combined low-dose-rate neutron and γ -ray radiation. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2016;795:36–40.
140. Li Y, Baiyang L, Leran B, Zhen W, Yandong X, Baixiang D. et al. Reduction-responsive PEOz-SS-PCL micelle with tailored size to overcome blood-brain barrier and enhance doxorubicin antiglioma effect. *Drug Deliv.* 2017;24:1782–90.
141. Kang L, Fan B, Sun P, Huang W, Jin M, Wang Q. et al. An effective tumor-targeting strategy utilizing hypoxia-sensitive siRNA delivery system for improved anti-tumor outcome. *Acta Biomater.* 2016;44:341–54.
142. Edwards DI. Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms. I. Mechanisms of action. *J Antimicrob Chemother.* 1993;31:9–20.
143. Liu H, Cai Y, Zhang Y, Xie Y, Qiu H, Hua L, *Development of a hypoxic radiosensitizer-prodrug liposome delivery DNA repair inhibitor Dbait combination with radiotherapy for glioma therapy.* *Adv Healthc Mater*; 2017. p. 6. (12).
144. Liu H, Xie Y, Zhang Y, Cai Y, Li B, Mao H. et al. Development of a hypoxia-triggered and hypoxic radiosensitized liposome as a doxorubicin carrier to promote synergetic chemo-/radio-therapy for glioma. *Biomaterials.* 2017;121:130–43.

145. . Cyb AF, Chmelevskaja ZI, Kudrjavceva GT. Clinical experiences with the use of metronidazole in the radiotherapy of cancer patients. *Radiobiol Radiother.* 1985;26:339–42.
146. Feketeova L, Postler J, Zavras A, Scheier P, Denifl S, O'Hair RAJ. Decomposition of nitroimidazole ions: experiment and theory. *Phys Chem Chem Phys.* 2015;17:12598–607.
147. Overgaard J. Hypoxic radiosensitization: Adored and ignored. *J Clin Oncol.* 2007;25:4066–74.
148. Siegal T, Charbit H, Paldor I, Zelikovitch B, Canello T, Benis A. et al. Dynamics of circulating hypoxia-mediated miRNAs and tumor response in patients with high-grade glioma treated with bevacizumab. *J Neurosurg.* 2016;125:1008–1015.
149. Brown JM. Tumor hypoxia in cancer therapy. *Methods Enzymol.* 2007;435:297–321.
150. Lehrer E.J., Singh R., Wang M., Chinchilli V.M., Trifiletti D.M., Ost P., Siva S., Meng M.-B., Tchelebi L., Zaorsky N.G. Safety and Survival Rates Associated With Ablative Stereotactic Radiotherapy for Patients With Oligometastatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2021;7:92. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.6146.
151. Lehrer E.J., Stoltzfus K.C., Jones B.M., Gusani N.J., Walter V., Wang M., Trifiletti D.M., Siva S., Louie A.V., Zaorsky N.G. Trends in Diagnosis and Treatment of Metastatic Cancer in the United States. *Am. J. Clin. Oncol.* 2021 doi: 10.1097/COC.0000000000000866.

ДОДАТОК

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Gryazov A.B., Medvedovska Yu.V., Gryazov A.A. Differential diagnostics of a radionecrosis and local tumoral recurrence according to arterial spin labeling after radiosurgery treatment of malignant gliomas of a brain. *Wiad. Lek.* 2020; 73(10): 2160-2164. PMID: 33310940.
2. Gryazov A.A., Lysiani M.I., Gryazov A.B., Medvedovska Y.V. Assessment of the state of immune system in patients with metastatic and glial brain tumors at the preparatory stage of radiotherapy. *Wiad Lek.* 2022; 75(7): 1747-1751. doi:10.36740/WLek202207125. PMID: 35962692.
3. Glavatskyi O.Ya., Griazov A.B., Chuvashova O.Yu., Kruchok I.V., Griazov A.A., Khmelnytskyi H.V., Shuba I.M., Stuley V.A, Zemskova O.V. Radiosurgical treatment of recurrent glioblastoma and prognostic factors affecting treatment outcomes. *Exp Oncol.* 2022 Dec;44(4):307-313.doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-4.18920.
4. Грязов А., Грязов А., Гридiна Н., Стулей В. Стереотаксична радіохірургія радіорезистентних гліобластом. Шляхи подолання радіорезистентності гіпоксичних пухлин. *Український радіологічний та онкологічний журнал.* (2022); 30(2): 25-40. <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2022.25-40>.
5. Грязов А. А., Лісяний М. І., Грязов А. Б. Особливості імунного статусу у хворих з метастатичними та гліальними пухлинами головного мозку на підготовчому етапі променевого лікування. *Український радіологічний та онкологічний журнал.* 2020; 28(4): 353-363. <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2020.353-363>.
6. Грязов А.А. Сопоставление динамически чувствительной магнитно-резонансной томографической перфузии и неинвазивной артериальной спин маркировки в диагностике степени злокачественности глиом. *Український радіологічний журнал.* 2018; 26(2): 74-79.
7. Грязов А., Главацький О., Земскова О., Грязов А., Чувашова О., Хмельницький Г., Шуба І., Кручок І., Шевельов М., Стулей В. Вживаність після

- радіохірургічного лікування рецидивних гліобластом у хворих із радикальною резекцією первинної пухлини. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2022; 128(1): 57-73. [https://doi.org/10.32345/USMYJ.1\(128\).2022.57-73](https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(128).2022.57-73).
8. Грязов А.Б., Земскова О.В., Грязов А.А. Етапність стереотаксичної радіохірургії в лікуванні рецидивних гліобластом. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2022; 28 (2): 46–53. <https://doi: 10.25305/unj.257785>.
 9. Грязов А.Б., Грязов А.А. Сучасні методи візуалізації у визначенні ефективності стереотаксичної радіохірургії в лікуванні хворих з гліобластомами. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції "Перспективи розвитку медицини в країнах ЄС та в Україні", Влоцлавек, Республіка Польща. 21 – 22 грудня 2018 р. С. 21.
 10. Грязов А.Б., Макеев С.С., Грязов А.А. Діагностичний супровід планування радіохірургічного лікування порожнини злоякісних гліом після хірургічної резекції. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих». Київ, 23–25 жовтня 2019. С. 77.
 11. Грязов А.Б., Чувашова О.Ю., Колесник С.П., Грязов А.А. Новый подход к радиохирургическому лечению опухолей головного мозга с использованием комплексных данных функциональной МРТ и диффузно-тензорной трактографии. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю «Високі технології в підвищенні якості життя нейрохірургічних хворих». Київ, 23–25 жовтня 2019. С. 75.
 12. Грязов А.Б., Грязов А.А. Показники вимірюваного коефіцієнта дифузії та швидкості і об'єму мозкового кровотоку у диференціальній діагностиці постпроменевих змін та рецидиву пухлини після радіохірургічного лікування гліобластом. Annual Conference of the Ukrainian Association of Neurosurgeons "The Ways to Improve the Functional Results of Treatment in Neurosurgery" (Polyanytsya village, March 13-15, 2019) Bukovel, Ukraine. С. 24-25.
 13. Главацький О.Я., Земскова О.В., Грязов А.А., Грязов А.Б., Васил'єва І.Г., Шуба І.М. Радіохірургічне лікування рецидивів гліобластом із застосуванням

комбінації антиангіогенного та цитостатичного засобів. Матеріали науково-практичної конференції нейрохірургів України з міжнародною участю “Організація та сучасні принципи надання спеціалізованої нейрохірургічної допомоги хворим на мозковий інсульт”. Вінниця, 5 – 7 вересня 2018 р.

- 14.Главацький О., Земскова О., Шуба І., Грязов А.А., Хмельницький Г., Грязов А.Б. Комбінована терапія рецидиву гліобластом радіохірургічно з наступним використанням антиангіогенних та цитостатичних препаратів. Матеріали II Науково-практичної конференції з міжнародною участю “Пухлини центральної нервової системи. Мультидисциплінарний підхід”. Харків, 18 – 20 жовтня 2018 р. С. 20.
- 15.Грязов А.А., Лісяний М.І., Грязов А.Б., Потапова А.Г. Особливості імунної системи у хворих з метастатичними та гліальними пухлинами головного мозку на підготовчому етапі променевого лікування. VII з’їзд нейрохірургів України з міжнар. участю, 11-18 травня 2021 р., Сіде, Туреччина. Тези. Київ-Сіде, 2021. С. 4.
- 16.Грязов А.Б., Грязов А.А. Нові технології лікування метастатичних пухлин головного мозку із застосуванням передопераційного стереотаксичного опромінення //VII з’їзд нейрохірургів України з міжнар. участю, 11-18 травня 2021 р., Сіде, Туреччина. Тези. Київ-Сіде, 2021. С. 36.
- 17.Грязов А.Б., Главацкий А.Я., Земскова О.В., Грязов А.А. Радиохирургическое лечение злокачественных опухолей головного мозга с применением радиосенсибилизаторов. Евразийский Союз Ученых. 2017. №2. С.42–50.
- 18.Грязов А.А., Грязов А.Б., Чувашова О.Ю. Диференціальна діагностика постпроменевих змін та рецидиву злоякісних гліом головного мозку після радіохірургічного лікування за даними волюметрії і показників дифузії. VIII Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров’я України», 17-19 квітня 2019 р. м. Київ. К., 2019. С. 81.