

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ОРГАНИЧЕСКИХ ПОЛУПРОДУКТОВ И КРАСИТЕЛЕЙ»
(ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»)**

"УТВЕРЖДАЮ"



Генеральный директор

ФГУП ГНЦ "НИОПИК"

И.О. Директора

Г.Н. Ворожцов

2011 г.

**ИТОГОВЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ОТЧЕТ
о результатах клинических исследований препарата Аласенс
по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006**

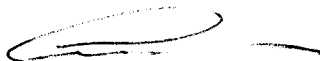
**«Перспективное открытое исследование эффективности флуоресцентной диагностики
с препаратом Аласенс у больных злокачественными первичными и метастатическими
опухолями мозга»**

Москва

2011

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Зав. лаб. № 3-1, д.х.н., профессор



Е.А. Лукьянец

Зав. НИМБЦ № 11, к.б.н.



В.И. Иванова-Радкевич

СОДЕРЖАНИЕ

Реферат

1. Введение
2. Цели и задачи исследования
3. Характеристика больных
4. Методика ФД с Аласенсом
5. Этические вопросы
6. Схема обследования больных
7. Эффективность ФД с Аласенсом
8. Переносимость ФД с Аласенсом
9. Заключение

Рекомендации

Литература

РЕФЕРАТ

Отчет содержит 21 страницу и 1 таблицу.

Ключевые слова: флюоресцентная диагностика (ФД), фотосенсибилизатор (ФС), Аласенс, злокачественные первичные и метастатические опухоли мозга.

В отчете представлены результаты клинического исследования по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006 "Перспективное открытое исследование эффективности флюоресцентной диагностики с препаратом Аласенс у больных злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга".

Исследование проводилось с 2007 г. по 2009 г. на базе 3 медицинских центров: Учреждение Российской академии медицинских наук "Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина РАМН", ФГУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Росмедтехнологий» и ГОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава».

Материалы клинического исследования были одобрены Комитетом по этике. На проведение клинического исследования было получено разрешение Росздравнадзора № 284 от 10.07.2007.

Целью клинического исследования по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006 являлась отработка режима проведения флюоресцентной диагностики с препаратом Аласенс (раствор для приема внутрь) у больных со злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга, оценка эффективности, переносимости, диагностической ценности препарата Аласенс, чувствительности и специфичности ФД с Аласенсом у этих групп больных.

В клиническое исследование было включено 30 пациентов со злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга.

Препарат Аласенс в дозе 20 мг/кг массы тела больного, растворенный непосредственно перед применением в 100 мл негазированной питьевой воды, пациенты принимали внутрь за 3 часа до начала эндотрахеального наркоза. Через 4-6 часов после приема раствора Аласенса интраоперационно начинали проведение диагностики. Сначала выполняли осмотр в белом свете. Затем выполняли осмотр в режиме флюоресценции в синем свете с регистрацией и измерением флюоресцирующих опухолевых очагов. После чего при наличии соответствующего оборудования дополнительно проводили спектроскопическое исследование. Затем проводили хирургическое иссечение опухоли, гемостаз. Брали биопсию из всех очагов флюоресценции, а также из нефлюоресцирующих тканей опухоли. Для

исключения ложноотрицательных результатов у каждого пациента брали контрольную "слепую" биопсию из нефлюоресцирующей части мозга. После полного удаления опухоли производили осмотр ложа удаленной опухоли в белом свете, затем во флюоресцентном режиме.

Применение флюоресцентной навигации при хирургическом удалении опухолей головного мозга позволило:

- у 7% пациентов более четко определить границы опухолей, которые по их физическим характеристикам было трудно дифференцировать от окружающей здоровой мозговой ткани;
- у 43% пациентов удалить опухоль более радикально (в 13% случаев уточнены границы опухоли до ее удаления, в 30% – после удаления опухоли на операционном поле по флюоресценции обнаружены участки опухоли, не видимые в белом свете).

В результате сравнительного анализа результатов флюоресцентной диагностики и морфологического исследования биопсийного материала получено: 67 истинноположительных результатов, 30 истинноотрицательных результатов, 4 ложноположительных результатов (неизмененные отечные ткани мозга) и 8 ложноотрицательных результатов (2 биоптата из нефлюоресцировавших метастазов меланомы, 1 – из нефлюоресцирующего участка метастаза рака почки (фиброзноизмененные клетки), 2 – из нефлюоресцирующей кистозной жидкости и 3 – из нефлюоресцирующих центральных некротических участков глиобластом).

На основании соотношения результатов флюоресцентного анализа и морфологического исследования биоптатов были рассчитаны операционные характеристики теста для оценки эффективности флюоресцентной диагностики. Чувствительность флюоресцентной диагностики составила 89%, специфичность – 88%, точность – 89%. Прогностическая ценность положительной флюоресценции, то есть вероятность того, что флюоресцирующая ткань окажется опухолевой, оценивается в 94%, прогностическая ценность отрицательной флюоресценции, то есть вероятность того, что нефлюоресцирующая ткань окажется доброкачественной, оценивается в 79%.

По данным спектроскопических исследований флюоресцентная контрастность опухолевой ткани у пациентов с рецидивами глиобластомы относительно неизменных тканей мозга составляла от 2,1 до 7,3. При спектроскопии у больных метастатическим поражением головного мозга флюоресцентная контрастность "опухоль/здоровые ткани" была несколько ниже и составляла от 1,6 до 3,4.

При клиническом наблюдении за пациентками не выявлено изменений их общего самочувствия, артериального давления, температуры тела при проведении ФД. Не

наблюдалось развития аллергических реакций, местных и общих токсических реакций, обострения сопутствующих заболеваний. Динамическое наблюдение за показателями крови и мочи показало отсутствие гемато-, нефро- и гепатотоксичности препарата Аласенс и ФД с его использованием.

У пациентов не было отмечено фототоксических реакций кожи лица и открытых участков тела, поскольку они строго соблюдали ограниченный световой режим в течение первых 24 часов после приема раствора Аласенса. При спектрометрии кожи лица и рук пациентов отмечалось достоверное увеличение интенсивности флюоресценции по сравнению с исходным фоновым через 4 часа после приема препарата, которое сохранялось до 24 часов и могло бы при нарушении светового режима вызвать фототоксические реакции кожи открытых участков тела.

1. ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом число онкологических больных неуклонно увеличивается, при этом уровень смертности от злокачественных новообразований занимает второе место, уступая смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [1,7,8]. В США в год выявляется в среднем 18500 новых случаев заболевания первичными злокачественными опухолями головного мозга (злокачественные глиомы), в год от данной патологии погибает 13000 человек [12]. К злокачественным глиомам относятся: глиобластома (ГБМ), анапластическая астроцитома (АА), анапластическая олигоденроглиома (АО), анапластическая олигоастроцитома (АОА) [13]. Эти опухоли имеют выраженный инфильтративный рост, также могут быть мультифокальными. Они не метастазируют за пределы нервной системы [14]. Основными методами лечения таких опухолей являются хирургическое удаление, лучевая терапия и химиотерапия. Основная цель хирургического лечения – удаление основной массы опухоли и создание тем самым благоприятных условий для адъювантной противорецидивной терапии. Накопленный опыт указывает на прямую зависимость между радикальностью удаления опухоли и продолжительностью жизни больного [5].

Лучевая терапия опухолей ЦНС играет значительную роль уже более 30-ти лет, обеспечивая увеличение выживаемости пациентов, уменьшая неврологическую симптоматику и улучшая качество жизни пациентов [4]. В последние два десятилетия все большее значение в лечении злокачественных опухолей головного мозга приобретает химиотерапия [2].

Но, несмотря на все современные достижения микрохирургии, лучевой терапии и химиотерапии, медиана продолжительности жизни пациентов со злокачественными глиомами остается низкой, особенно при глиобластоме, где не превышает 15 месяцев (Р.У. Wen, 2001г., Г.Л. Кобяков, 1998 г., А.В. Голанов, 1999 г., Neurooncology, 2008 г.).

Внутри мозговые метастазы – наиболее часто встречающиеся интракраниальные опухоли взрослого населения. В США по данным разных авторов выявляется от 98000 до 170000 новых случаев метастатического поражения головного мозга в год [16,18,19]. По данным аутопсий большинство метастазов имеют округлую форму, хорошо отграничены от окружающих мозговых тканей, однако на микроскопическом уровне имеют инфильтративный рост [11]. Процентное соотношения частоты метастазов в головной мозг в зависимости от первичного очага по данным разных авторов отличается, однако во всех работах на первом месте стоит рак лёгкого, далее по убывающей – рак молочной железы, меланома, рак почки, колоректальный рак и опухоли других локализаций [15,17]. По данным различных авторов, частота встречаемости одиночных и множественных метастазов

колеблется в пределах 49%-53% и 47%-51%, соответственно [6,9,17]. Несмотря на определенные успехи нейроонкологов в лечении больных с метастазами злокачественных опухолей в головной мозг в течение последних лет отдаленные результаты остаются неудовлетворительными. В настоящее время медиана выживаемости у пациентов без лечения составляет приблизительно 1 мес., при добавлении кортикостероидов – 2 мес., после облучения всего головного мозга – 3-6 мес., и 12-16 мес., если используются хирургия или радиохирurgia в сочетании с облучением всего головного мозга [10].

Все вышеизложенное стимулирует к поиску новых методик, способных улучшить результаты лечения данной категории пациентов, без ухудшения качества жизни.

Все вышеизложенное стимулирует к поиску новых методик, способных улучшить результаты лечения данной категории пациентов, без ухудшения качества жизни.

В течение длительного времени ведутся исследования применения флюоресцентной диагностики в лечении опухолей головного мозга.

Флюоресцентная диагностика – это метод локальной визуализации опухолей. ФД опухолей состоит из следующих этапов: введение фотосенсибилизатора в организм, с последующим его накоплением и задержкой в опухолевой ткани; фотоактивация фотосенсибилизатора светом (в том числе, лазерным) определенной длины волны, после того как он накопился в опухолевых клетках. В результате взаимодействия фотосенсибилизатора и световой энергии фотохимические реакции, что приводит к свечению (флюоресценции) опухолевых клеток.

Чрезвычайно актуальным в нейроонкологии остается визуализация опухоли и оценка полноты удаления ее хирургическим путем, особенно в случаях злокачественных опухолей, когда трудно отдифференцировать опухоль от здоровой ткани мозга и, соответственно, определить границы опухолевого роста. Выживаемость этих больных остается низкой при использовании комбинированного и/или комплексного лечения и определяется, в том числе, не радикальностью оперативного вмешательства.

Проведение экспериментальных и клинических исследований в нейроонкологии со структурными аналогами препарата Аласенс – препаратами 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК) (Медак, Гамбург, Германия) и Левулан (ДЮФА, США), выполненные в Университете Максимилиана-Людвига (г.Мюнхен) (W. Stummer, H. Stepp R. Baumgartner), Университете г. Торонто (Канада) (P. Muller, B. Wilson) показали, что накопление 5-АЛК в опухоли мозга значительно и характеризуется высоким флюоресцентным контрастом между опухолью и окружающей здоровой тканью как у экспериментальных животных, так и у больных. В Германии завершена III фаза многоцентрового (19 медицинских центров) клинического

исследования по интраоперационной флюоресцентной диагностике у больных глиобластомой 4 степени злокачественности с препаратом 5-АЛК (Медак, Гамбург, Германия), принимаемым внутрь в дозе 20 мг/кг веса тела пациента за 3 часа до эндотрахеального наркоза. Проведено рандомизированное исследование, двойным слепым методом с использованием в качестве контроля пациентов, которым проводилась традиционное микрохирургическое удаление опухоли в белом свете. В исследование было включено 350 больных, заключительный анализ проведен по 270 больным, 139 из которых выполнена флюоресцентная навигация интраоперационно. Использование интраоперационной флюоресцентной навигации позволило повысить количество удаляемой опухолевой ткани, существенно повысить радикальность оперативного вмешательства и достоверно увеличить безрецидивную выживаемость через 6 месяцев после операции с 21% до 41% (W. Stummer, 2006 г), а также продолжительность жизни больных глиальными опухолями мозга.

ФД является перспективным методом диагностики злокачественных опухолей головного мозга, требует тщательного всестороннего изучения, анализа результатов, определения четких показаний и противопоказаний.

2. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью клинического исследования по протоколу № 8-(ФД-АЛК)-2006 являлась отработка режима проведения флюоресцентной диагностики с препаратом Аласенс (раствор для приема внутрь) у больных со злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга, оценка эффективности, переносимости, диагностической ценности препарата Аласенс, чувствительности и специфичности ФД с Аласенсом у этих групп больных.

В задачи исследования входило:

- Получение данных об эффективности применения метода ФД с Аласенсом у больных со злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга.
- Выявление характера и частоты побочных эффектов и осложнений при выбранном режиме ФД с препаратом Аласенс у этих больных.
- Изучение накопления протопорфирина IX (ПпIX) в нормальных и патологически измененных тканях мозга.
- Изучение частоты и причины ложноположительных и ложноотрицательных результатов ФД с препаратом Аласенс на основе сопоставления данных флюоресцентного и морфологического исследования.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

Выбор пациентов для участия в клиническом исследовании по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006 осуществлялся на добровольной основе. Пациенты были подробно проинформированы о препарате Аласенс, целях и продолжительности клинического исследования, методике проведения ФД, мерах профилактики по предотвращению побочных реакций, в том числе связанных с кожной фототоксичностью, действиях по регистрации эффективности и переносимости препарата Аласенс и собственно методике интраоперационной ФД.

В клиническое исследование по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006 было включено 30 пациентов со злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга. У 17 пациентов из 30, включенных в исследование, были диагностированы метастазы рака легкого, почки, молочной железы, яичников и меланомы в головной мозг. У остальных 13 пациентов были диагностированы глиальные опухоли головного мозга, в том числе у 11 – глиобластомы, у 1 – анапластическая астроцитома и у 1 – мультифокальная анапластическая олигоастроцитома.

В исследуемой группе пациентов мужчин было 19, женщин – 11. Средний возраст больных составил 51 ± 13 (от 22 до 63) лет.

Неподдающиеся лечению сопутствующие заболевания отсутствовали. Все пациенты, включенные в исследование, соответствовали критериям включения протокола № 8-(ФД-АЛА)-2006:

- возраст старше 18 лет;
- верифицированный диагноз (инструментально и/или морфологически подтвержденный диагноз опухолевого поражения головного мозга первичного или вторичного), при метастатическом поражении головного мозга морфологически подтвержденный диагноз опухолевого процесса;
- объективно оцениваемые и измеряемые опухолевые очаги;
- ожидаемая продолжительность жизни – не менее 2 месяцев;
- артериальное давление $\leq 170/110$ мм. рт. ст.;
- уровень креатинина в плазме крови ≤ 180 мкмоль/л, АЛТ, АСТ ≤ 70 ед/л, о.билирубин ≤ 30 мкмоль/л, гематологические показатели: количество лейкоцитов > 3000 /мкл, тромбоцитов > 120000 /мкл, гемоглобин > 8 г/дл.;
- отсутствие неподдающихся лечебному контролю сопутствующих заболеваний;
- способность пациента выполнять процедуры исследования и предоставить письменное информированное согласие в соответствии с GCP и местным законодательством.

Данные о пациентах, включенных в исследование, представлены в табл. 1.

Таблица 1.

Характеристика пациентов, включенных в исследование по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006.

Кол-во пациентов	30
Из них:	
– мужчин	19
– женщин	11
Возраст пациентов (полных лет)	51±13 (от 22 до 63)
Диагноз:	
– метастазы рака легкого, почки, молочной железы, яичников и меланомы в головной мозг	17
– глиальные опухоли головного мозга, в том числе:	13
– глиобластома	11
– анапластическая астроцитома	1
– мультифокальная анапластическая олигоастроцитома	1

У всех больных был соблюден рекомендуемый режим проведения ФД. За время проведения исследования выбывших больных не было.

4. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Лекарственное средство

Препарат Аласенс – препарат для ФД и ФДТ злокачественных опухолей производства ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» (порошок для приготовления раствора для приема внутрь и инстилляций). В настоящее время препарат находится на регистрации.

Аппаратура и инструментарий

Для получения 2-мерного флюоресцентного изображения использовали сертифицированные источники оптического излучения с длиной волны в диапазоне 385-440 нм: D-Light AF-systems производства "Карл Шторц" (Германия), источник излучения производства ЦЕНИ ИОФ РАН (РФ), операционный микроскоп Pentero производства "Карл Цейсс" (Германия), а также флюоресцентный нейроэндоскоп производства "Карл Шторц" (Германия).

Для спектроскопических исследований использовали флюоресцентно-спектроскопическую установку ЛЭСА-01 производства ЗАО "Биоспек" (РФ). Применяли ее в качестве источника излучения, возбуждающего флюоресценцию ПпIX в тканях, а также для регистрации спектров интенсивности флюоресценции и определения флюоресцентной

контрастности на границе "опухоль/норма". В процессе спектрометрии средняя мощность лазерного излучения составляла 2 мВт, плотность энергии локального лазерного облучения на поверхности тканей в процессе одного обследования $< 1 \text{ Дж/см}^2$, что существенно ниже уровня индуцирования необратимых фотодинамических повреждений тканей, нежелательных при диагностических обследованиях. Основными компонентами ЛЭСА-01 кроме источника лазерного излучения являются спектральный анализатор для приема флуоресценции и рассеянного лазерного излучения и его последующего анализа и волоконно-оптическая система для подведения лазерного излучения к исследуемому объекту и передачи получаемого сигнала на спектральный анализатор. Система светофильтров обеспечивает регистрацию сигналов флуоресценции и рассеянного лазерного излучения одновременно в диапазоне 630-750 нм. Спектрограф вместе с электроникой для сбора данных смонтирован на плате, встроенной в компьютер. Приемный сигнал оцифровывается, передается в память компьютера и изображается на дисплее в реальном масштабе времени. Получаемая информация обрабатывается специализированной программой компьютера. Такая система позволяет получать спектр диффузного отражения и флуоресценции с частотой 0,1 секунды, что достаточно для мониторинга в реальном масштабе времени.

Методика проведения ФЛ

1-й этап. Прием препарата.

Препарат Аласенс в дозе 20 мг/кг массы тела больного, растворенный непосредственно перед применением в 100 мл негазированной питьевой воды, пациенты принимали внутрь за 3 часа до начала эндотрахеального наркоза.

2-й этап. Диагностика в белом свете.

Через 4-6 часов после приема раствора Аласенса интраоперационно при использовании эндотрахеального наркоза начинали диагностику. Выполняли осмотр в белом свете с регистрацией и измерением видимых опухолевых очагов, в случае если они дифференцировались от нормальной ткани мозга.

3-й этап. Флуоресцентная диагностика.

Выполняли осмотр в режиме флуоресценции в синем свете. Оценивали наличие и интенсивность флуоресценции опухоли и прилегающих к ней тканей, соотносили границы флуоресценции с границами опухоли, определяемыми в белом свете. При отсутствии различий опухолевой и здоровой ткани мозга ориентиром служили данные КТ и/или МРТ мозга.

4-й этап. Спектрометрия.

После осмотра в синем свете при наличии соответствующего оборудования дополнительно проводили спектроскопическое исследование. Спектрометрию проводили контактно при соприкосновении световода с тканями мозга, каждая точка измерялась трижды, для дальнейшей обработки использовалась средняя величина интенсивности регистрируемого сигнала. Определяли спектр с анализом его по форме и амплитуде сигнала и интегральная интенсивность флюоресценции в разных точках визуально определяемого метастаза или глиобластомы, прилегающих к нему тканей мозга, неизмененных тканей мозга, нормальной кожи руки, лица и слизистой нижней губы пациентов. Определяли также соотношение между значениями интенсивности флюоресценции в опухоли и нормальной ткани, которое благодаря линейной связи между интенсивностью флюоресценции и концентрацией фотосенсибилизатора характеризует селективность его накопления в опухолевой ткани.

5-й этап: Операция.

Проводили хирургическое иссечение опухоли, гемостаз. Брали биопсию из всех очагов флюоресценции, а также из нефлюоресцирующих тканей опухоли. Для исключения ложноотрицательных результатов у каждого пациента брали контрольную "слепую" биопсию из нефлюоресцирующей части мозга.

6-й этап. Флюоресцентная диагностика операционного поля.

После полного удаления опухоли производили осмотр ложа удаленной опухоли в белом свете, затем во флюоресцентном режиме: оценивали наличие, интенсивность флюоресценции, границы флюоресцирующих очагов, соотносили их наличие с видимыми в белом свете опухолевыми очагами остаточной опухоли. При выявлении очагов флюоресценции на стенках послеоперационной полости производили их удаление с последующим морфологическим исследованием.

5. ЭТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

Исследование проведено с соблюдением этических принципов, заложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» (1964 г., с последующими дополнениями) и отраженных в Национальном стандарте РФ "Надлежащая клиническая практика" ГОСТ Р 52379-2005, утвержденном Приказом Ростехрегулирования от 27.09.2005 N 232-ст., правилах ICH GCP и действующих нормативных требованиях. Материалы клинического исследования одобрены Комитетом по этике до начала исследования. На проведение клинического исследования по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006

было получено разрешение Министерства здравоохранения и социального развития № 284 от 10.07.2007 года.

Выбор больных осуществлялся на добровольной основе. Все пациенты были подробно информированы об изученных свойствах препарата, показаниях, противопоказаниях, путях введения, мерах предосторожности для предотвращения побочных реакций, а также о своем участии в исследовании эффективности и переносимости фотодинамической терапии с препаратом Аласенс. У всех участников исследования до начала исследования получено информированное согласие. Информация для пациента содержала все сведения о проводимом клиническом исследовании. Все участники исследования были застрахованы в ОСАО "Ингосстрах" (Полис страхования № 431-007687/06).

6. СХЕМА ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ

Обследование больных согласно схеме протокола № 8-(ФД-АЛА)-2006 включало:

- описание клинической картины – до введения Аласенса, в день проведения ФД, через 1,3,7 дней после ФД;
- измерение основных показателей организма (температуры тела, АД) – до введения Аласенса, в день проведения ФД, через 1,3,7 дней после ФД;
- ЭКГ – до введения Аласенса, в день проведения ФД, через 1 и 7 дней после ФД;
- ЭЭГ – до введения Аласенса;
- анализ мочи (удельная плотность, глюкоза, белок, элементы крови, цвет, осадок) – до введения Аласенса, через 1 и 7 дней после ФД;
- общий клинический анализ крови (эритроциты, лейкоциты, лейкоцитарная формула, гемоглобин, тромбоциты) – до введения Аласенса, через 1 и 7 дней после ФД;
- биохимический анализ крови (АСТ, АЛТ, билирубин, креатинин сыворотки, общий белок, альбумин, глюкоза) – до введения Аласенса, через 1 и 7 дней после ФД;
- осмотр офтальмолога – до введения Аласенса;
- КТ и/или МРТ – до введения Аласенса, через 3 дня после проведения ФД;
- рентгенография грудной клетки – до введения Аласенса;
- УЗИ лимфоузлов шеи, печени, селезенки – до введения Аласенса;
- морфологическое исследование (биопсия) – в день проведения ФД;
- анализ побочных эффектов на всем протяжении наблюдения за пациентами.

7. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФД С АЛАСЕНСОМ

7.1. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФД С АЛАСЕНСОМ

Оценку эффективности ФД с препаратом Аласенс у больных, включенных в исследование по протоколу № 8-(ФД-АЛА)-2006, проводили на основании результатов флюоресцентного анализа (сравнение количества и границ визуально наблюдаемых опухолевых очагов и количества и границ флуоресцирующих очагов, интенсивность флюоресценции в различных участках опухоли) и данных морфологического исследования биопсийного материала.

После проведения гистологического исследования биоптатов результат оценивали:

- как истинноположительный при нахождении опухолевых клеток во флуоресцирующих участках;
- как ложноположительный при отсутствии опухолевых клеток во флуоресцирующих участках;
- как истинноотрицательный при отсутствии опухолевых клеток в нефлуоресцирующих участках головного мозга;
- как ложноотрицательный при нахождении опухолевых клеток в нефлуоресцирующих участках.

На основании соотношения результатов флюоресцентного анализа и морфологического исследования биоптатов рассчитывали операционные характеристики теста для оценки эффективности диагностики: чувствительность, специфичность, точность, прогностическая ценность положительной и отрицательной флюоресценции.

По результатам спектрометрии определяли также соотношение между значениями интенсивности флюоресценции в опухоли и нормальной ткани, которое благодаря линейной связи между интенсивностью флюоресценции и концентрацией фотосенсибилизатора характеризует селективность его накопления в опухолевой ткани.

7.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ФД С АЛАСЕНСОМ

Обследовано 30 пациентов со злокачественными первичными и метастатическими опухолями мозга. У 17 пациентов из 30, включенных в исследование, были диагностированы метастазы рака легкого, почки, молочной железы, яичников и меланомы в головной мозг. У остальных 13 пациентов были диагностированы глиальные опухоли головного мозга, в том числе у 11 – глиобластомы, у 1 – анапластическая астроцитома и у 1 – мультифокальная анапластическая олигоастроцитома.

При определении наличия и интенсивности флюоресценции основного опухолевого очага у 30 пациентов, включенных в исследование:

- у 23 (77%) пациентов зарегистрирована четкая флюоресценция всего опухолевого очага, определяемого в белом свете и по данным КТ/МРТ;
- у 6 (20%) пациентов зарегистрирована частичная флюоресценция опухоли, в том числе:
 - у 3 пациентов не флюоресцировала центральная некротическая часть опухоли;
 - у 2 пациентов, у которых глиобластома была представлена солидной и кистозной частью, зарегистрирована яркая флюоресценция солидной части опухоли, более слабая флюоресценция капсулы и кисты и отсутствие флюоресценции кистозной жидкости;
 - у 1 пациента с метастазом рака почки в головной мозг зарегистрирована отчетливая флюоресценция участков опухоли, представленных активно делящимися клетками почечноклеточного рака и отсутствие флюоресценции участков опухоли, представленных медленно делящимися фиброзноизмененными клетками;
- у 1 (3%) пациента с двумя метастазами рака меланомы в головной мозг оба опухолевых очага не флюоресцировали.

При определении границ флюоресценции основного опухолевого очага у 29 пациентов (как отмечено выше, у 1 пациента опухоль не флюоресцировала):

- у 21 (70%) пациента границы флюоресценции совпадали с границами очага, определяемыми в белом свете, а также по данным КТ/МРТ;
- у 2 (7%) пациентов флюоресцентная диагностика позволила более четко определить границы опухолей, которые по их физическим характеристикам было трудно отдифференцировать от окружающей здоровой мозговой ткани;
- у 4 (13%) пациентов флюоресцентная диагностика позволила уточнить границы опухоли (границы флюоресцирующей ткани были шире, чем определяемые в белом свете и являлись, по данным морфологического исследования, опухолевой тканью) и более радикально удалить злокачественную ткань;
- у 3 (10%) пациентов границы флюоресценции также были шире, чем определяемые в белом свете, однако, по данным морфологического исследования, во флюоресцировавших перифокальных тканях клеток опухоли не обнаружено – ложноположительные результаты.

После хирургического удаления опухоли головного мозга под флюоресцентной навигацией у 9 (30%) из 30 пациентов дополнительно выявлено 12 зон флюоресценции на дне и стенках полости удаленной опухоли. После удаления флюоресцирующих участков по

данным морфологического исследования в 11 из них были обнаружены опухолевые клетки, то есть опухоль была удалена более радикально, а в 1 очаге была неизменная ткань с явлениями интерстициального отека.

Следует отметить, что у 2 пациентов опухоль было невозможно удалить из-за особенностей ее расположения. При этом границы флюоресценции остаточной опухоли совпадали с определяемыми в белом свете.

С целью определения уровня достоверности флюоресцентной диагностики было взято 109 биопсий. Из них 71 биопсия из флюоресцирующих участков мозга, в том числе из центральных зон интенсивной флюоресценции, из слабофлюоресцирующих перифокальных участков опухолевой инфильтрации и капсул кистозных образований, а также из участков флюоресценции, обнаруженных после хирургического удаления опухоли. При гистологическом исследовании в 67 биоптатах из флюоресцирующих участков были обнаружены опухолевые клетки и результат оценивался как истинноположительный, в 4 случаях получены ложноположительные результаты (неизменные отечные ткани мозга).

Также было взято 38 биопсий из нефлюоресцирующих участков мозга ("слепые" биопсии из визуально неизменных тканей мозга и биопсии из нефлюоресцирующих тканей мозга, определяемых, как опухолевые в белом свете или по данным КТ/МРТ). По данным гистологического исследования, ни в одной из 30 "слепых" биопсий не было обнаружено опухолевых клеток – истинноотрицательные результаты. Как ложноотрицательные были оценены 8 результатов: 2 биоптата из нефлюоресцировавших метастазов меланомы, 1 – из нефлюоресцирующего участка метастаза рака почки (фиброзноизмененные клетки), 2 – из нефлюоресцирующей кистозной жидкости и 3 – из нефлюоресцирующих центральных некротических участков глиобластом.

Дополнительно 18 больным (13 больным с метастатическим поражением головного мозга и 5 больным с диагнозом глиобластома) было проведено спектроскопическое исследование.

У пациентов с рецидивами глиобластомы опухолевые ткани (за исключением некротических участков опухоли) значительно накапливали ПпIX, флюоресцентная контрастность относительно неизменных тканей мозга составляла от 2,1 до 7,3. Флюоресцентная контрастность в зоне перифокального отека составляла не более 1,6.

При спектроскопии у больных метастатическим поражением головного мозга флюоресцентная контрастность "опухоль/здоровые ткани" была несколько ниже и составляла от 1,6 до 3,4.

8. ПЕРЕНОСИМОСТЬ ФД С АЛАСЕНСОМ

Критериями оценки переносимости препарата Аласенс и ФД с его применением являлись результаты лабораторного и клинического обследования больных, включающие оценку частоты и степени выраженности общих и местных токсических реакций, динамику морфологических и биохимических показателей крови.

При приеме внутрь раствора препарата Аласенс ни у одного пациента не было отмечено токсических и аллергических реакций, в том числе токсических проявлений со стороны желудочно-кишечного тракта, изменений общего самочувствия, температуры тела, артериального давления в течение всего периода наблюдения (7 дней после приема препарата и проведения диагностики).

Артериальное давление до начала лечения у всех пациентов было в пределах возрастной нормы и колебалось в пределах 110/70-130/85 мм.рт.ст. В процессе и после проведения диагностики величина этого показателя на протяжении всего периода наблюдения существенно не изменялась.

До включения в исследование у 4 пациентов были зарегистрированы различные виды изменений на ЭКГ: гипертрофия левого желудочка, отклонение электрической оси сердца, атриовентрикулярная блокада I ст., рубцовые изменения миокарда левого желудочка, синусовая тахикардия, нарушения процессов реполяризации передне-боковой стенки сердца, снижение вольтажа Q-R в стандартных отведениях, блокада одной из ножек пучка Гисса. При электрокардиографическом исследовании через 1-7 дней после проведения ФД лечения не было зарегистрировано отклонений от исходных показателей в процессе динамического наблюдения. Дистрофические, диффузные изменения миокарда не нарастали.

Состояние печени оценивали по данным содержания в сыворотке крови общего белка, билирубина, активности трансаминаз (АСТ, АЛТ) и щелочной фосфатазы. Анализ показал, что существенных изменений в величине этих показателей на 7-е сутки после введения Аласенса по сравнению с исходными их значениями у больных не возникали. У одного больного отмечено превышение уровня АЛТ и АСТ на 30 %, что может быть связано как с приемом препарата Аласенс, так и с введением препаратов многокомпонентного наркоза — это никак не сказалось на его самочувствии и не потребовало специфического лечения; в анамнезе больной злоупотреблял алкоголем.

Динамическое наблюдение за показателями крови и мочи показало отсутствие гемато- и нефротоксичности препарата Аласенс и флюоресцентной диагностики с его использованием. В целом в группе из 30 больных колебания параметров биохимического анализа крови, мочи не превышали границ физиологической нормы, не было выявлено статистически значимых

различий в значениях параметров в контрольные сроки обследования.

Пациенты строго соблюдали ограниченный световой режим в течение первых 24 часов после приема раствора Аласенса в дозе 20 мг/кг. У пациентов не было отмечено фототоксических реакций кожи лица и открытых участков тела. В то же время при спектрометрии кожи лица и рук пациентов отмечалось достоверное увеличение интенсивности флюоресценции по сравнению с исходным фоновым через 4 часа после приема препарата, которое сохранялось до 24 часов и могло бы при нарушении светового режима вызвать фототоксические реакции кожи открытых участков тела. Тем не менее длительное пребывание пациента в операционной не привело к развитию фототоксических реакций.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показывают высокую эффективность, безопасность и перспективность применения интраоперационной флюоресцентной диагностики с препаратом Аласенс по предложенной в протоколе методике у пациентов со злокачественными первичными и метастатическими опухолями головного мозга. Выполненная флюоресцентная навигация в процессе хирургического иссечения опухоли головного мозга у 50% пациентов позволила уточнить границы опухолевого роста, увеличить объем удаляемой опухолевой ткани и более радикально удалить опухоль. По результатам исследования отмечена высокая чувствительность (89%), специфичность (88%) и точность (89%) флюоресцентной диагностики. Прогностическая ценность положительной флюоресценции, то есть вероятность того, что флюоресцирующая ткань окажется опухолевой, оценивается в 94%, прогностическая ценность отрицательной флюоресценции, то есть вероятность того, что нефлюоресцирующая ткань окажется доброкачественной, оценивается в 79%.

Проведение интраоперационной флюоресцентной диагностики с препаратом Аласенс не вызывало развития каких-либо местных или общих токсических реакций, изменения самочувствия пациентов.

РЕКОМЕНДАЦИИ

Препарат Аласенс в дозе 20 мг/кг веса тела больного в виде раствора для приема внутрь может быть рекомендован для клинического применения как диагностическое средство при интраоперационной диагностике у больных с опухолями головного мозга с целью уточнения границ опухолевого роста и выявления скрытых очагов опухолевого поражения головного мозга.

Список литературы

1. Альперович П.М. – «Дифференциально-диагностические признаки одиночных и множественных метастазов рака в головной мозг»-- 1975, Журнал невропатологии и психиатрии имени Корсакова, вып. 9, стр. 1333-1339.
2. Кобяков Г.Л., Личиницер М.Р. «Химиотерапия злокачественных опухолей головного мозга», Клиническая неврология под редакцией А.Н.Коновалова, том III, часть 1, гл. 10, стр. 218 – 220, Москва 2004
3. Коршунов А.Г. «Классификация опухолей нервной системы», Клиническая неврология под редакцией А.Н.Коновалова, том III, часть 1, гл.6, стр. 171, Москва 2004
4. Крымский В.А. «Лучевая терапия опухолей мозга», Клиническая неврология под редакцией А.Н.Коновалова, том III, часть 1, гл. 9, стр. 211 – 217, Москва 2004
5. Лошаков В.А., Голанов А.В. «Глиомы», Клиническая неврология под редакцией А.Н.Коновалова, том III, часть 1, гл. 11, стр. 221 – 239, Москва 2004
6. Лошаков В.А. «Интракраниальные метастатические опухоли», Клиническая неврология под редакцией А.Н.Коновалова, том III, часть 1, гл. 20.2, стр. 402 – 406, Москва 2004
7. Мартынов Ю.С., Идрисова М.И. – «Поражение головного мозга при раке легких» -- 1981, Журнал невропатологии и психиатрии имени Корсакова, вып. 11, стр. 1601-1606
8. Рагайшене В.Н. – «Лучевая терапия метастатических опухолей головного мозга» -- 1981, Медицинская радиология, №9, стр. 62-63
9. Delattre J.Y., Krol G. – «Distribution of brain metastases» - Arch. Neurol., 1988, 45. 741-744
10. Ewenal M.G. et. al.: Curent menegment of brain metastases; J.Neurosurgery Vol.57, №5, Nov.2005, S4-66 – S4-77.
11. Henson RA, Urich H. Cancer and the Nervous System. London: Blackwell Scientific; 1982
12. Jermal A, Murray T, Ward E at al. Cancer statistics,2005.CA Cancer J Clin 2005;55: 10-30
13. Kleihouse P, Cavanee WK. World Health Organization Classifications of Tumors: Tumors of the Nervous System – Pathology and Genetics. Lyon, France: IARC Press, 2000
14. Lacroix M, Abi-Said D, Fournay DR, et al. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival. J Neurosurg 2001;95:190-198
15. Lang F, Sawaya R: Metastatic Brain Tumors; Neuro-oncology, Second edition, 2008, p.367
16. Larson D, Rubenstein J, McDermott M: Treatment of metastatic cancer, in DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds): Cancer Principles and Practice of Oncology. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2004, pp 2323-2398
17. Nussbaum ES, Djalilian HR, Cho KH, Hall WA – «Brain metastases: Histology, multiplicity,

surgery an survival» - Cancer, 78:1781-1788,1996

18. Pollock BE, Brown PD, Foote RL, Stafford SL, Schomberg PJ: Properly selected patients with multiple brain metastases may benefit from aggressive treatment of their intracranial disease. J Neurooncol 61:73-80, 2003
1995;11:335-345.
19. Posner JB. – «Management of brain metastases» - Rev Neurol (Paris) 1992, 148:477:87