

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А.П. Ромоданова НАМН
України»**

На правах рукопису

УДК 616.831.71-006.482-053.8-092-071-089

ЛІСЯНИЙ ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ

**МЕДУЛОБЛАСТОМИ МОЗОЧКУ
У ДОРΟΣЛИХ
(ПАТОГЕНЕЗ, КЛІНІКА, ЛІКУВАННЯ)**

14.01.05 — нейрохірургія

ДИСЕРТАЦІЯ
на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Науковий консультант:
ЗОЗУЛЯ Ю.П.,
д.мед.н., професор,
академік НАН і НАМН України

Київ – 2016

ЗМІСТ

	Стор.
Список умовних скорочень	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.	17
1.1. Етіологія та патогенез медулобластом	17
1.1.1. Погляди на природу медулобластом в історичному аспекті	17
1.1.2. Гістологічні варіанти медулобластом у дітей і дорослих	19
1.1.3. Молекулярно-генетичні особливості медулобластом	23
1.1.3.1. Молекули клітинної адгезії та інші молекулярні маркери пухлин головного мозку	33
1.1.4. Роль стовбурових клітин в онкогенезі	35
1.1.5. Роль вірусів в патогенезі пухлин головного мозку	40
1.2. Клінічні прояви та діагностика медулобластом у дорослих	46
1.3. Лікування дорослих при медулобластомах	49
1.3.1. Особливості хірургічної тактики при медулобластомах	50
1.3.2. Променева терапія	55
1.3.2.1. Схеми та дози краніоспінальної променевої терапії	57
1.3.2.2. Ускладнення променевої терапії	59
1.3.3. Хіміотерапія	61
1.3.4. Особливості лікувального патоморфозу медулобластом після ад'ювантної терапії	67
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	70
2.1. Загальна клінічна та діагностична характеристика власних спостережень	74
2.1.1 Клінічні прояви і динаміка розвитку захворювання у хворих на МБ мозочку.	75
2.1.2 Дані нейровізуалізуючих методів обстеження при МБ	87

мозочку у дорослих.	
2.1.3. Локалізація МБ мозочку у дорослих та стадіювання згідно класифікації Chang (2002)	94
2.1.4. Лікування дорослих хворих з МБ мозочку.	97
2.2. Лабораторні дослідження	98
2.2.1. Непрямий імуногістохімічний метод виявлення Ki-67	98
2.2.2. Визначення вірусної контамінації пухлин методом полімеразної ланцюгової реакції	99
2.2.3. Імуногістохімічне визначення стовбурових пухлинних клітин у медулобластомах та інших пухлинах головного мозку	109
2.2.4. Фенотипування клітин пухлин головного мозку за допомогою моноклональних антитіл	113
2.2.5. Визначення антитіл до герпестичних вірусів в сироватці крові хворих на пухлини головного мозку методом імуноферментного аналізу.	115
2.2.6. Статистична обробка клінічних даних і результатів лабораторних досліджень	117
РОЗДІЛ 3. МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДУЛОБЛАСТОМ У ДОРΟΣЛИХ ХВОРИХ	119
3.1. Морфологічна та електронно-мікроскопічна характеристика медулобластом у дорослих	119
3.2. Дослідження проліферативної активності клітин медулобластом за індексом Ki-67 у дорослих і дітей	128
3.3. Морфометричні та ультраструктурні дослідження медулобластом дорослих і дітей	131
РОЗДІЛ 4. ВМІСТ СТОВБУРОВИХ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ТА ІНШИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ У МЕДУЛОБЛАСТОМАХ ДОРΟΣЛИХ ХВОРИХ	148

РОЗДІЛ 5. ГЕРПЕСВІРУСНА КОНТАМІНАЦІЯ МЕДУЛОБЛАСТОМ ДОРΟΣЛИХ ОСІБ	171
РОЗДІЛ 6. ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН В ГІСТОСТРУКТУРІ МЕДУЛОБЛАСТОМ ДОРΟΣЛИХ ОСІБ ПІСЛЯ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ	190
6.1. Морфологічні особливості гістоструктури інтактних МБ (матеріал першої операції)	192
6.2. Патоморфологічний аналіз особливостей гістоструктури медулобластом на матеріалі повторних операцій після променевої терапії	203
РОЗДІЛ 7. ЛІКУВАННЯ МЕДУЛОБЛАСТОМ У ДОРΟΣЛИХ ПАЦІЄНТІВ ТА АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ.	217
7.1. Катамнез життя хворих при МБ після комбінованого лікування	228
7.2. Променева терапія	236
7.3. Хіміотерапія	239
7.4. Повторні операції	246
7.5. Багатофакторний аналіз за методом регресії Кокса	248
ЗАКЛЮЧЕННЯ	251
ВИСНОВКИ	274
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	277

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АКТ	— аксіальна комп'ютерна томографія
ВПГ	— вірус прстого герпеса
ГБ	— гліобластома
ГЕБ	— гематоенцефалічний бар'єр
ГМ	— головний мозок
ЕЕГ	— електроенцефалографія
ЗЧЯ	— задня черепна ямка
ІГХ	— імуногістохімія
ІЛ	— інтерлейкін
ІФА	— імуно-ферментний аналіз
КГФБ	— кислий гліальний фібрилярний білок
КСПТ	— краніоспінальна променева терапія
КТ	— комп'ютерна томографія
ЛП	— люмбальна пункція
МБ	— медулобластома
МКА	— молекули клітинної адгезії
ММК	— мостомозочковий кут
МРТ	— магніторезонансна томографія
НСК	— нейрональні стовбурові клітини
ПЕТ	— позитронно-емісійна томографія
ПЛР	— полімеразна ланцюгова реакція
ПНЕП	— примітивні нейроектодермальні пухлини
ПТ	— променева терапія
ПХТ	— поліхіміотерапія
УЗА	— ультразвукова аспірація
СМР	— спинномозкова рідина

СПК	— стовбурові пухлинні клітини
ЦМВ	— цитомегаловірус
ЦНС	— центральна нервова система
ШК	— шкала Карновського

ВСТУП

Актуальність теми. Медулобластоми головного мозку дорослих є важливою та недостатньо вивченою проблемою нейроонкології, яка потребує поглибленого дослідження етіології і патогенезу з метою поліпшення надання медичної допомоги при лікуванні цієї категорії хворих. Медулобластоми належать до ембріональних злоякісних пухлин мозочку, які найчастіше трапляються в дитячому віці [1,2,3,8,9]. На відміну від дитячого віку частота медулобластом у дорослих становить лише 8–15% від загальної кількості медулобластом у дітей та менше 1% у структурі всіх пухлин головного мозку. За даними літератури, поширення медулобластом у дорослих — 2–20 випадки на 1000 тис. населення [60,75].

Причини і патогенез розвитку медулобластом у дорослих досліджено недостатньо. Існують різні гіпотези, зокрема про можливу закладку пухлини в ембріональному періоді і розвиток її у зрілому віці. Згідно з іншою теорією виникнення медулобластом відбувається із нервових стовбурових клітин унаслідок їх трансформації під впливом різних онкогенів, зокрема вірусів [77, 80]. Припускається, що медулобластоми у дорослих відрізняються від дитячих пухлин і виникають внаслідок дедиференціювання нейронів зернистого шару кори мозочку під впливом мутагенних чинників [16,17].

Стандартом лікування медулобластом у дорослих є комбіноване лікування за схемами, подібними до педіатричних [3,9,13,20]. Однак спроби адаптувати педіатричні протоколи для лікування дорослих пацієнтів призводять до високої токсичності в поєднанні з низькою ефективністю [35].

В останні роки з'явилися роботи, спрямовані на вивчення медулобластом дорослих, але, враховуючи відносну рідкість патології, кількість спостережень в цих публікаціях невелика [10,17,21]. В Україні

раніше не проводились дослідження, направлені на вивчення медулобластом дорослих та аналізу результатів їх лікування.

Впродовж десятиліть за гістоструктурою медулобластоми розподіляли на класичний та десмопластичний тип [12,13,14]. На сьогоднішній день згідно з гістологічною класифікацією ВООЗ пухлин ЦНС (2007) виділяють 4 типи медулобластом: класичний, десмопластичний/нодулярний, анапластичний/великоклітинний і медулобластоми з вираженою нодулярністю [51].

Подальші дослідження сприяли появі нової молекулярно-генетичної класифікації медулобластом, остаточний варіант якої було прийнято в Бостоні восени 2010 р. [19,22]. На конференції було наведено докази існування 4 великих груп медулобластом: WNT, SHH, група 3 і 4. Перші дві групи названо за визначенням сигнальних внутрішньоклітинних шляхів передачі сигналів проліферації та апоптозу, які відіграють важливу роль у патогенезі медулобластом. Значно менше відомо про біологію медулобластом 3-ї та 4-ї груп, тому було прийнято рішення не давати назви цим групам до появи нових даних щодо їх онкогенезу.

Поряд з молекулярно-генетичними дослідженнями велику увагу приділяють вивченню ролі стовбурових клітин у розвитку медулобластом. Відомо, що у цих пухлинах наявна велика кількість CD-133⁺-клітин, які отримали назву «пухлинні стовбурові» (СПК), і відповідають за злоякісність, інвазії, метастазування та індукцію пухлин при трансплантації тваринам [23,24,160,163,169,174]. Багато питань щодо ролі пухлинних стовбурових клітин в онкогенезі пухлин, зокрема медулобластом дорослих, залишаються мало вивченими [172,173].

В останнє десятиріччя поглиблено вивчають роль вірусів герпесу і особливо цитомегаловірусу (ЦМВ) в індукції пухлин людини, зокрема гліобластом та медулобластом [212,213,214,215]. Контамінацію ЦМВ тканини медулобластом дорослих та її роль у розвитку цих пухлин не вивчено.

Вплив різних етапів лікування (хірургічного видалення пухлини, променевої терапії, хіміотерапії) на тривалість життя дорослих хворих з медулобластомами оцінюють по-різному. За даними М. Nazmy та співавт. (2011) [21] повне видалення пухлини з подальшим краніоспінальним опроміненням сприяє кращим результатам. Затримка початку променевої терапії асоціюється з поганим прогнозом, а застосування хіміотерапії у дорослих не збільшує тривалість термінів виживання. За даними С. Ang та співавт. (2008) [31], вік і стать хворих, об'єм видалення, хіміотерапія і час до початку ад'ювантного лікування не мають значущого впливу на віддалені результати.

Таким чином, можна стверджувати, що медулобластоми у дорослих і дітей є неоднорідною групою пухлин, які відрізняються за гістологічними та молекулярно-генетичними ознаками і, можливо, за механізмами онкогенезу.

Більшість робіт, присвячених медулобластомам дорослих, виконано на невеликих вибірках пацієнтів, що ускладнює оцінку отриманих результатів, тому актуальним є дослідження та аналіз лікування великих груп дорослих з медулобластомами для вивчення особливостей етіології, походження, механізмів росту та метастазування цих пухлин з метою пошуку нових підходів до нейрохірургічного і комбінованого лікування.

Все викладене вище зумовило вибір напрямку, мету та завдання дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано згідно з планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»: «Розробити хірургічну тактику при продовженому рості внутрішньомозкових пухлин субтенторіальної локалізації» № держреєстрації 0111U002207 (2011–2013 рр.); «Дослідити порушення регуляторної та ефекторної ланки імунної системи при злоякісних пухлинах головного мозку та розробити способи їх корекції імунотропними препаратами», № держреєстрації 010U002190 (2010–2012 рр.); «Дослідити імунологічні та онкогенні властивості ектодермальних

пухлин головного мозку, в яких персистують герпес-вірусні інфекції», № держреєстрації 0113U007710 (2014–2016 рр.). Дисертант був виконавцем окремих фрагментів науково-дослідних робіт.

Мета дослідження — підвищення ефективності діагностики та покращення результатів лікування дорослих з медулобластомами мозочку на підставі вивчення клінічних, морфологічних, молекулярних характеристик, вірусної контамінації цих пухлин, вмісту стовбурових пухлинних клітин та аналізу результатів їх комбінованого лікування.

Завдання дослідження:

1. Уточнити особливості клінічного перебігу медулобластом мозочку у дорослих.
2. Проаналізувати результати хірургічного лікування медулобластом у дорослих. Визначити вплив радикальності оперативних втручань на ранні та віддалені результати лікування медулобластом.
3. Дослідити особливості гістологічної та електронно-мікроскопічної структури медулобластом та порівняти її з такою пухлин дитячого віку.
4. Визначити вміст стовбурових пухлинних клітин (СПК) у медулобластомах у порівнянні з іншими пухлинами головного мозку дорослих і дітей та проаналізувати особливості медулобластом у дорослих залежно від наявності у них СПК.
5. Проаналізувати особливості експресії мембранних молекулярних маркерів інвазії, апоптозу та проліферації клітинами медулобластом в залежності від віку хворих.
6. Встановити тип та частоту герпес-вірусної персистенції в клітинах медулобластом та інших пухлинах головного мозку у дорослих і дітей, дослідити особливості медулобластом у дорослих з наявністю вірусної контамінації.
7. Дослідити патоморфологічні зміни в тканині медулобластом у дорослих після променевої терапії (променевий патоморфоз). Визначити

ступінь чутливості клітин медулобластом та особливості дії променевої терапії.

8. Визначити ефективність комбінованого лікування медулобластом у дорослих (якість життя і тривалість безрецидивного періоду) та розробити рекомендації щодо поліпшення результатів лікування.

9. Обґрунтувати доцільність комплексної діагностики та лікування медулобластом у дорослих з урахуванням їх морфологічних, вірусологічних та клітино - молекулярних особливостей.

Об`єкт дослідження: медулобластоми мозочку.

Предмет дослідження: окремі ланки патогенезу, клінічний перебіг та лікування дорослих пацієнтів із медулобластомами мозочку.

Методи дослідження: 1) комплексне клініко-неврологічне дослідження для визначення типу клінічних проявів захворювання, 2) нейровізуалізуючі методи (комп'ютерна (КТ), магнітно-резонансна томографія (МРТ)) для визначення розміру, локалізації, поширення медулобластом у дорослих, контролю результатів хірургічного лікування, 3) морфологічні, електронно-мікроскопічні, імуногістохімічні, вірусологічні для встановлення гістологічного діагнозу та вивчення особливостей онкогенезу медулобластом у дорослих, 4) методи статистичного аналізу для визначення статистичної значущості отриманих даних.

При виконанні дослідження дотримувалися принципів біоетики.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертаційне дослідження сприяє вирішенню актуальної проблеми нейрохірургії — покращення результатів лікування дорослих з медулобластомами мозочку шляхом вивчення клінічних, морфологічних, молекулярних характеристик цих пухлин, їх вірусної контамінації, вмісту стовбурових пухлинних клітин та розробки комплексного підходу до діагностики і лікування.

Вперше проведено дослідження тканини медулобластом у дорослих на наявність стовбурових пухлинних клітин (СПК) та герпес-вірусної контамінації. У медулобластомах дорослих СПК виявлено у 68,2% випадків,

у медулобластомах дітей — у 85,4%. Вперше визначено, що найчастіше у тканині пухлин виявляються два віруси — ЦМВ та вірус Епштейна–Барр (ВЕБ). Залежно від контамінації пухлинного вогнища медулобластоми у дорослих розподіляють на чотири групи: пухлини без вірусів, пухлини з двома вірусами, пухлини з ЦМВ та пухлини з ВЕБ. Доведено, що пацієнти з пухлинами, контамінованими двома вірусами, мають більший розмір пухлин та коротший безрецидивний період.

Досліджено експресію на клітинах медулобластом у дорослих молекулярних активаційних рецепторів та фенотипічних маркерів (CD-25, CD-45, CD-3, CD-34, CD-38, CD-56(NCAM), CD-95, p-53). Визначено, що медулобластоми у дорослих містять меншу кількість клітин з активаційними рецепторами порівняно з медулобластомами у дітей. Показано необхідність застосування індивідуальної лікувальної тактики з урахуванням морфологічних, вірусологічних та клітино-молекулярних характеристик медулобластом.

Підтверджено гістологічну подібність медулобластом у дорослих та дітей. В той же час, за даними електронно-мікроскопічних досліджень виявлено відмінності у будові ядра, хроматину, кількості ядерець, структурі мітохондрій, довжині та ширині міжклітинних контактів між медулобластомами у дорослих та дітей.

Проаналізовано результати нейрохірургічного лікування 197 дорослих пацієнтів з медулобластомами мозочку. Найкращі результати щодо тривалості безрецидивного періоду та якості життя дорослих хворих з медулобластомами мозочку відзначено при субтотальному та тотальному видаленні пухлин. При частковому видаленні медулобластом у дорослих, яке обумовлено анатомо-топографічними особливостями пухлин, скорочується тривалість безрецидивного періоду.

Встановлено, що використання нейровізуалізуючих методів дає змогу діагностувати первинне вогнище медулобластоми у дорослих, а також виявляти ранні ознаки їх метастазування, що визначає тактику лікування.

Кількість медулобластом, які під час первинної діагностики мали ознаки метастазування в головному мозку та хребетному каналі, не перевищує 1,5%.

Поглиблено наукове уявлення про вплив променевої терапії на гістоструктуру медулобластоми у дорослих та визначено 3 варіанти патоморфологічних змін у тканині медулобластом: цитостатичні, цитодеструктивні та цитостатично-цитодеструктивні. Найбільші терміни безрецидивного періоду життя спостерігали при цитостатично-цитодеструктивній дії променевої терапії, розпочатої в ранній період після хірургічної операції.

Встановлено, що у 22,5% від загальної кількості досліджених спостережень була відсутня чутливість до дії променевої терапії, що дало підставу розподілити медулобластоми дорослих на чутливі та резистентні до опромінення.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами дослідження розроблено і впроваджено комплексний діагностично-лікувальний протокол, який ґрунтується на диференційованому підході до вибору тактики лікування у дорослих хворих з медулобластомами, що сприяє досягненню оптимального лікувального ефекту мікрохірургічного та комбінованого лікування і високих показників якості життя хворих.

Встановлено, що використання сучасних методів діагностики, нейрохірургічних технологій, анестезіологічного забезпечення дало змогу за останні 13 років досягти підвищення радикальності операцій на тлі відсутності післяопераційної летальності та значно збільшити тривалість безрецидивного періоду, що свідчить про створення ефективної діагностично-лікувальної технології надання допомоги дорослим пацієнтам з медулобластомами мозочку.

Розроблено та впроваджено в клінічну практику нові методики — отримання ДНК із тканини пухлин для полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) (патент України на корисну модель №99734 від 25.06.2015 р.) та методику дослідження біопсійного матеріалу на наявність герпес-вірусного

забруднення пухлини (патент України на корисну модель №94944 від 10.12.2014 р.). Запропоновано розподіл пацієнтів з медулобластомами на групи в залежності від вірусної контамінації тканини пухлин та без неї.

Рекомендовано визначати в біопсійному матеріалі такі молекулярні предикти та маркери, як стовбурові клітини (CD-34, CD-133), молекули клітинної адгезії, апоптозу та проліферації, індекс Ki-67 та використовувати отримані дані для оцінки проліферативного та інвазивного потенціалу медулобластом у дорослих та прогнозування результатів лікування (патент України на корисну модель №78108 від 11.03.2013 р.).

Досліджений характер впливу променевої терапії на медулобластоми дорослих хворих та впроваджено в практику методику оцінки післяпроменевого патоморфозу.

Запропоновано нову діагностично-лікувальну схему комбінованого лікування медулобластом у дорослих, яка передбачає виявлення новоутворення на ранніх стадіях, виконання хірургічного втручання, направлено на радикальне видалення новоутворення, гістологічне, вірусологічне та імуногістохімічне дослідження пухлинного матеріалу, МРТ з контрастуванням головного мозку та хребетного каналу після операції та ранній початок променевої терапії, що дало змогу поліпшити результати лікування і збільшити тривалість безрецидивного періоду.

Результати дисертаційного дослідження впроваджено в клінічну практику відділень субтенторіальної нейроонкології та нейрохірургії дитячого віку ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України». Наукові розробки дослідження впроваджені в роботу відділів нейропатоморфології, нейроімунології та лабораторії культури нервових клітин ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України». Основні теоретичні результати дослідження включені до матеріалів курсів інформації, стажування, лекцій і семінарів кафедр нейрохірургії Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, Львівського національного медичного університету ім. Данила

Галицького МОЗ України, Одеського національного медичного університету МОЗ України.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз наукової літератури з проблеми комбінованого лікування медулобластом. Ідею дисертаційної роботи запропоновано дисертантом, спільно з науковим консультантом академіком НАМН та НАНУ проф. Зозулею Ю.П. сформульовано мету і завдання дослідження, проведено обговорення результатів та висновків. Дисертант безпосередньо брав участь в обстеженні та лікуванні більшості хворих, включених у дисертаційне дослідження. Особисто виконав первинну обробку медичної документації, результатів клініко-інструментальних досліджень, аналіз лабораторних результатів. Дисертант самостійно провів статистичну обробку результатів дослідження. Всі розділи дисертації написано та оформлено автором особисто.

Матеріали, висновки та положення кандидатської дисертації автора не використано в його докторській дисертації.

Автор висловлює щирю подяку за допомогу у виконанні морфологічних, імуногістохімічних, молекулярних досліджень співробітникам відділів патоморфології, електронної мікроскопії та лабораторії культури нервових клітин ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України».

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційного дослідження доповідалися на: IV з'їзді нейрохірургів України (Дніпропетровськ, 2008), конференції нейрохірургів України (Судак, Крим, 2011), конференції нейрохірургів України «Досягнення нейрохірургії останнього десятиріччя» в межах Міжнародного медичного форуму «Інновації в медицині — здоров'я нації» (Київ, 2012), науково-практичній конференції по імунології з міжнародною участю «Епідеміологія, імунопатогенез, діагностика, лікування хламідіозу та TORCH-інфекцій (Київ,

2012), 8th Black Sea Neurosurgical congress (Тбілісі, Грузія, 2013), V з'їзді нейрохірургів України (Ужгород, 2013), 15th World Congress of Neurosurgery (Сеул, 2013), міжнародній науково-практичній конференції «Сучасний вимір медичної науки та практики» (Дніпропетровськ, 2014), XIII Всеросійській науково-практичній конференції «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, 2014), міжнародній науково-практичній конференції «Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті» (Одеса, 2015), конференції нейрохірургів України «Нові тенденції в нейрохірургії» (Київ, 2015), 15th interim meeting of the World Federation of Neurosurgical Societies (Рим, 2015).

Апробація дисертації відбулася на спільному засіданні Вченої ради ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», кафедр нейрохірургії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця МОЗ України та Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України 13 листопада 2015 р., протокол №17.

Публікації. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 35 наукових друкованих праць, з яких 20 статей (5 одноосібних) у фахових періодичних виданнях, рекомендованих МОН України, у тому числі 15 — у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз, отримано 3 патенти України на корисну модель, 12 тез доповідей на наукових конференціях, конгресах і з'їздах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, шести розділів власних досліджень, заключення, висновків, практичних рекомендацій, додатку. Роботу викладено на 309 сторінках, ілюстровано 69 рисунками, 33 таблицями. Список використаних літературних джерел містить 291 посилання, з них 30 — кирилицею та 261 — латиною

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Етіологія та патогенез медулобластом

МБ мозочка — злоякісні пухлини ГМ, які найчастіше виявляють у дитячому віці, вони становлять майже 30% у структурі усіх пухлин ГМ у дітей [25]. МБ становлять майже 20% у структурі усіх пухлин ЦНС у хворих дитячого віку, їх виявляють у 0,5–0,7 спостережень на 100 тис. дитячого населення до 15 років [26]. Співвідношення хлопчики / дівчатка становить від 1,7:1 до 2,5:1 [27]. МБ становлять 1% у структурі інтракраніальних пухлин у дорослих, частота їх виявлення — від 2–20 спостережень на 1 млн. населення, співвідношення дорослі / діти становить 1:8–10 [28]. У 80% дорослих МБ виявляють у віці від 21 до 40 років, агресивність пухлини зменшується у міру збільшення віку хворого [29]. За даними одних авторів, серед хворих при МБ переважають чоловіки [11, 17, 18, 30–34], за даними інших — жінки [29, 36, 37]. Прогноз лікування хворих при МБ останніми роками значно покращився завдяки досягненням хіміо- та радіотерапії [29, 30, 38].

1.1.1. Погляди на природу медулобластом в історичному аспекті

Термін «медулобластома мозочка» вперше використаний нейрохірургами Bailey P., Cushing H. у 1925 р. для позначення високозлоякісної дрібноклітинної пухлини в ділянці середньої лінії мозочка [39]. Автори спиралися на дані Schaper A. [40], який в процесі нормального ембріогенезу описав особливий вид мігруючих клітин з мізерною протоплазмою і мало вираженими відростками. За Schaper A. такі клітини є

індиферентними, біпотенціальними, тобто в процесі подальшого розвитку здатні диференціюватися як у нейробласти, так і спонгіобласти. Bailey P. і Cushing H. вважали, що МБ складаються з таких ембріональних індиферентних мігруючих клітин, відповідно, клітини пухлини можуть диференціюватися у спонгіо- або нейробласти. Наявність у деяких МБ невеликої кількості зрілих астроцитів, гліальних волокон або гангліозних клітин автори вважали ознаками диференціювання медулобластів. Більшість авторів підтримали точку зору Bailey P., Cushing H. [39] про походження МБ з ембріонального зачатка. Проте, серед дослідників немає єдиної думки щодо походження МБ та можливостей диференціювання їх клітин: так, одні автори вважають, що медулобласти можуть диференціюватися виключно у спонгіобласти [41], інші — виключно у нейробласти [42], деякі науковці припускають, що обидва варіанти можливі [1, 6, 12, 13, 40].

Пізніше S.R. Cajal [43] довів, що зовнішній зернистий шар мозочка являє собою нейробластичний матрикс, який дає початок виключно гранулярним, кошикоподібним і зірчастим нейронам кори мозочка.

Існувала альтернативна гіпотеза Rio del Hortega, який, використовуючи імпрегнацію сріблом для виявлення незрілих форм нейронів, вважав, що МБ є нейробластою мозочка. Цю точку зору поділяли Stevenson L. і Echlin F. [44], які запропонували термін «гранулобластома» через схожість клітин МБ з нейробластами зовнішнього зернистого шару мозочка.

У класифікації пухлин ГМ Смірнова Л.І. [12] запропоноване більш складне трактування МБ: виділені олігодендробластична, епендимобластична, нейробластична, пінеобластична, спонгіобластична МБ, автор вважав, що МБ виникає з ектопічних зачатків зернистого шару мозочка.

Stevenson L. і Echlin F [44] припускали, що МБ виникає не з медулобластів, а з ембріонального зовнішнього зернистого шару мозочка, тому їх можна називати «гранулобластомами».

Таким чином, питання про природу та походження МБ потребує подальшого вивчення.

У 1970–1980 рр. нейрональна природа МБ була доведена багатьма дослідниками, які використовували метод імуногістохімії (ІГХ), зокрема, антитіла до нейрональних елементів цитоскелету, синапсів та інших асоційованих протеїнів [4, 7, 45].

Погляди на гістогенез МБ значно змінилися за останні 75 років. На сьогоднішній день існує дві основні гіпотези. Згідно з першою гіпотезою, МБ походить з клітин зовнішнього гранулярного шару мозочка, які в ембріогенезі розвиваються з недиференційованих клітин даху ІV шлуночка, які мігрують на поверхню мозочка і в подальшому формують внутрішні гранулярні нейрони; відповідно до другої — т.зв. «ПНЕП-концепції» — МБ походять з клітин субепендимарного матриксу ембріональної ЦНС (тобто клітин-попередниць) [46, 47].

1.1.2. Гістологічні варіанти медулобластом у дітей і дорослих

МБ за гістологічною структурою є різноманітними. Впродовж десятиліть виділяли класичний і десмопластичний варіанти МБ. За даними вивчення виживання дорослих пацієнтів з МБ, встановлено, що воно не пов'язане з гістологічним варіантом пухлин, а залежить скоріше від віку хворого [48]. Винятком є ліпоматозна МБ [49], яку виявляють у дорослих, прогноз оптимістичний навіть за неповної резекції новоутворення бо його мультицентричного росту. За даними Rezaei A.R. і співавторів [50], у молодих пацієнтів після субтотальної резекції міксопапілярної або високозлоякісної МБ ризик дисемінації досить високий.

Класична МБ має солідну структуру, без ознак диференціювання клітин пухлини, у тканині МБ наявні численні мітози, вогнища колікваційного некрозу. Найчастіше (у 40% спостережень) виявляють МБ з нейрональним диференціюванням клітин, ознаками якого є нейробластичні розетки Хомера–

Райта, колоноподібне розташування клітин, олігодендроцитоподібні клітини з набряклого світлою цитоплазмою, острівці гіпохромних клітин (мозочкова або центральна нейробластома). У МБ з гліальним диференціюванням наявні ділянки астроцитарного диференціювання (позитивне імунне забарвлення клітин пухлини у реакції з антитілами до гліального маркера — КГФБ), натомість зрілі пухлинні астроцити та епендимоцити виявляють рідко. Можливе поєднання нейронального і гліального напрямків диференціювання.

Клітини МБ часто пенетрують лептоменінгеальну оболонку, при цьому у тканині пухлини виявляють тяжі сполучної тканини. Така гістологічної картини описана як «десмоплазія» [12 55].

Десмопластичні МБ характеризуються наявністю блідих острівців — зон, позбавлених ретикуліну, що містять клітини з нейрональним і астроцитарним диференціюванням, оточених щільним скупченням клітин з гіперхромними ядрами, які продукують велику кількість ретикулінових волокон. Макроскопічно така пухлина має, як правило, чіткі межі, локалізована у поверхневих відділах кори півкуль мозочка.

Крім того, описані досить рідкісні варіанти МБ. Один з них — МБ з м'язовим диференціюванням клітин. Мікроскопічно в тканині пухлини визначаються міобласти, групи поперечно-посмугованих, рідше гладеньком'язових волокон. Меланотична МБ — ще один рідкісний варіант новоутворення з вогнищами клітин, які містять меланін і утворюють желеподібні або папілярні структури.

Крупноклітинна МБ складається з клітин з відносно великим везикулярним ядром і чітко окресленим ядерцем. Більшість клітин дає позитивну ІГХ реакцію з антитілами до білків-нейрофіламентів і нейрональними маркерами, зокрема синаптофізином. Такий варіант МБ характеризується особливо агресивним перебігом, метастазуванням.

Відповідно до класифікації ВООЗ 2007 р. [51], виділяють 4 варіанти МБ (табл. 1.1.2.1). Нодулярну і десмопластичну МБ вважають прогностично сприятливими, хоча не всі дослідники поділяють цю точку зору. Крупноклітинна

/ анапластична МБ — вкрай агресивний варіант пухлини, що асоціюється з високим ризиком метастазування.

Таблиця 1.1.2.1.

**Гістологічні варіанти МБ за класифікацією ВООЗ
2007 р. [51]**

Варіанти МБ	Гістологічні особливості	ІГХ маркери
Класичний	Висока клітинна щільність, численні мітози, гіперхромні ядра, бліда цитоплазма	Vm, Sn
З вираженою вузлуватістю (рідкісний)	У вузлах — клітини з однотипними ядрами, які нагадують нейроцити	NSE, Sn, Nf
Десмопластичний	У вузлах відсутній ретикулін; «бліді острівці» з однотипними клітинами і невеликою кількістю мітозів, оточені щільними скупченнями гіперхромних клітин з численними мітозами і ретикуліновими волокнами	NSE, Sn, Nf
Крупноклітинна / анапластична	Ділянки округлих клітин з плеіоморфними ядрами, численними мітозами, ділянками апоптозу та некрозу; може спостерігатися анаплазія	Vm, Sn
Примітка. Vm — віментин, Sn — синаптофізин, NSE — нейроспецифічна енолаза, Nf — нейрофіламенти.		

Для морфологічної діагностики важливо, що клітини МБ імунореактивні по відношенню до NSE, синаптофізину, р-тубуліну III класу, деякі з них — до віментину, гліального кислого протеїну та нестину, за негативної експресії актину, цитокератину [15, 16, 22, 51].

У дітей частіше виявляють класичні МБ, у дорослих вони більш мономорфні [52, 53]. Дифузні класичні МБ не мають особливостей архітекtonіки, лише зрідка у них виявляють нейробластичні розетки, ще рідше — колонарні структури [54].

На думку McLendon R.E., всі нодулярні пухлини є десмопластичними, проте, не всі десмопластичні новоутворення є нодулярними, визначати десмоплазію слід за наявністю ретикулінових волокон [55].

У дітей десмопластичні МБ виявляють у 15% спостережень, у дорослих — у 30–40%, у них десмоплазія є більш «зрілою» [55]. За даними ІГХ дослідження у МБ дорослих часто відзначають експресію гліофібрилярного кислого білка GFAP. [56, 57], хоча такі GFAP-позитивні клітини пухлини виявляли в субарахноїдальному просторі та в метастазах МБ [53].

У МБ відзначають нейрональне диференціювання (розетки Хомера–Райта, псевдо розетки, гангліозних клітини), ядерний плеоморфізм [58, 59]. У МБ у дітей (класичних і десмопластичних) більш високий проліферативний потенціал і мітотичний індекс, апоптотичний індекс знижений порівняно з таким у МБ дорослих [60], за даними деяких авторів, зазначені показники росту пухлин у МБ дорослих не є прогностичними [61].

Доведено, що прогноз для життя хворих більш сприятливий за десмопластичних МБ, ніж за класичних [55, 62, 63], хоча інші автори не пов'язують десмоплазію пухлин і тривалість життя пацієнтів [64].

МБ з підвищеною вузлуватістю виявляють виключно у дітей віком до 2 років, характерна МРТ-картина у вигляді «грон винограду»; прогноз сприятливий, після опромінення та / або хіміотерапії (ХТ) проліферуючі нейроцити можуть диференціюватися, утворюючи більш зрілу гангліоневрому або гангліогліому [65, 66]. Анапластичну МБ виявляють рідко, переважно у дітей, прогноз вкрай несприятливий, високий ступінь анаплазії, ампліфікація гена МУС з хромосомою 17q, висока ймовірність виникнення метастазів, підвищення загальної кількості хромосомних аберацій порівняно з класичним або десмопластичним варіантом пухлини [55, 56, 59, 67–71]. Анаплазія можлива при рецидивах класичних і десмопластичних МБ (збільшення розмірів ядер клітин пухлини, набуття ними

округлої або неправильної форми з явищами «поглинання» або «огортання» сусідніх ядер, збільшення кількості мітозів, апоптотичних тілець, плеоморфізм) [54, 56]. У дорослих анаплазію в МБ виявляють вкрай рідко, вважається, що вона суттєво не впливає на прогноз перебігу захворювання [72].

Крупноклітинна МБ відрізняється від анапластичної лише мономорфністю великих круглих клітин з еозинофільною цитоплазмою, нерідко їх розглядають разом, як варіант анапластичної МБ.

1.1.3. Молекулярно-генетичні особливості медулобластом

Дослідження молекулярних аномалій злоякісних пухлин виявили велику кількість генів, мутації яких ініціюють неопластичну трансформацію (протоонкогени) або інактивують блокування цього процесу (антионкогени) та численні сигнальні шляхів їх реалізації [15, 18, 19, 73]. Разом з тим, вивчення онкогенного ефекту окремих генів сприяло формуванню уявлення про мультигенний характер формування пухлинного фенотипу клітини. З'являється все більше фактичних даних про роль сигнальних шляхів активації та супресії генів в канцерогенезі [74].

Дані літератури стосовно генетичних порушень у МБ дорослих не однозначні. Це переважно ретроспективні дослідження великої кількості пухлин за тривалий період часу, які складно проаналізувати через відмінності у підходах до їх лікування [75–78] або невеликі серії спостережень, які складно використовувати як прогностичні маркери без врахування клінічних, і морфологічних даних [78, 79]. Невисока частота виявлення МБ у дорослих і брак даних стосовно біології цих пухлин зумовлюють складність вибору оптимальної стратегії лікування. У більшості публікацій генетичні особливості МБ аналізують незалежно від віку хворих [75-78].

При порівняльній геномній гібридизації агау-SGH з високою роздільною здатністю виявлені тонкі порушення в геномі, визначені критичні ділянки ураження на рівні окремих генів, залучених до процесу виникнення МБ у

дорослих. Вивчення експресії різних генів методом експресійного профайлінгу дозволило визначити залучені в патогенез МБ у дорослих гени наступних сигнальних шляхів: Sonic Hedgehog, Wnt/Wingless і гени, які контролюють синаптогенез, нейрональне диференціювання, рецептори глутамату. Порівняння генетичних порушень у МБ дорослих і дітей виявило прогностичні маркери, залежні від віку хворого: ампліфікація CDK6, добавка 17q, втрата 10q мають несприятливе прогностичне значення при МБ у дорослих, ампліфікація гену MUC — у дітей [80].

За даними цитогенетичного дослідження МБ виявлені значні і різноманітні порушення будови хромосом. Найчастіше (у 40–45% спостережень) виявляють порушення у 17-й хромосомі, зокрема, скорочення її короткого плеча [81–83], хоча ізольоване порушення цілісності 17-ї хромосоми виявляють рідко, частіше воно асоціюється з змінами інших хромосом, наприклад, 8, 9, 16, 22-ї [84]. Зміни 22-ї хромосоми виявляють при ектодермальних пухлинах, зокрема, невриномі, нейробластомі, ГБ [15]. Вкорочення 17-ї і 22-ї хромосом зумовлене втратою або зміною локалізації супресорних генів, зокрема, втрата короткого плеча 17-ї хромосоми пов'язана з супресорним геном p53 [81, 82, 85, 86]. Водночас клінічне значення зміни будови хромосом недостатньо вивчене, в поодиноких публікаціях не завжди відображений зв'язок між перебігом захворювання, тривалістю життя пацієнтів і порушенням будови хромосом. Так, за даними генетичного дослідження у 32 хворих при МБ зміни будови 17-ї хромосоми виявлені у 50% спостережень; при порівнянні катамнезу у 4 хворих з зміненою і у 4 — з незміненою 17-ю хромосомою тривалість безрецидивного періоду не відрізнялася [87]. Клініко-прогностичне значення цитогенетичних порушень не до кінця вивчене, вважають, що вкорочення 17-ї хромосоми притаманне класичним і анапластичним МБ, 9-ї хромосоми — десмопластичним [88–91]. Велику увагу приділяють вивченню гена ERBB-2, експресія якого підвищена не тільки в МБ, а і пухлинах легень, шлунка. Найбільш виражена експресія цього гена в пухлинах з високим потенціалом до метастазування [92];

вважають, що ген ERBB-2 є не тільки проонкогенним, а й прометастатичним. Найбільш повно вивчені онкогени c-тус-н, n-тус, гіперекспресію яких виявляють у 5–10% хворих при МБ [93, 94]. Підвищена амплікація тус-онкогенів корелює з агресивними біологічними властивостями МБ, анапластичним її варіантом, поганим прогнозом [95–97]. Збільшення в клітинах пухлини мРНК тус-гена свідчить про його активність і також є несприятливим прогностичним фактором [95, 98].

У МБ підвищена експресія інших маркерів проліферації, характерних для інших типів пухлин, зокрема, bcl-2, bcl-2n, Вах, p53, p-21, Ki-67 і PCNA. Проте, зв'язок їх експресії в тканині пухлин з тривалістю життя хворих або особливостями метастазування встановити вдається не завжди [99]. Цікаві дані отримані в експерименті з генетично дефектними лініями мишей, у яких спеціально виключений (нокаутований) один з генів [100]. Якщо «нокаутувати» ген p53, то після народження у тварин виникають різні пухлини, вони швидко гинуть. При експериментальному виключенні двох генів (Lig-4 і p53) впродовж 21 доби після народження в мозочку мишей формувалися лише МБ, інші пухлини ГМ у них не виявлені. Автори роблять важливі висновки для розуміння природи МБ і зазначають, що ці результати дослідження свідчать на користь теорії ембріонального походження МБ, для виникнення пухлини необхідні як мінімум два генетичні порушення в процесі нейрогенезу — дисфункція генів ДНК, зокрема, Lig-4, і поява або активація онкогенів (мутація супресорного гена p53). За наявності тільки одного порушення МБ у мишей не виникає. Водночас клінічний перебіг МБ не зовсім узгоджується з даними наведених генетичних досліджень, оскільки їх виявляють не тільки у ранньому дитинстві, а й у більш старших дітей, у дорослих і навіть в осіб літнього віку. Крім того, у більшості дітей при МБ відсутні клініко-морфологічні ознаки недорозвинення ЦНС, наявні у мишей після «виключення» гена Lig-4, тобто ця експериментальна модель МБ не абсолютно адекватна пухлинам, які виявляють у людей, вона відображає лише один з багатьох можливих механізмів виникнення МБ.

Порушення розвитку ГМ і виникнення цілого ряду пухлин спостерігають також при мутації супресорного гена *Patched* [101]. У разі «нокауту» цього гена у мишей виявляють недорозвинений мозочок, у 15% спостережень — також карциному, МБ, рабдоміосаркому. Отже, можливі й інші генетичні порушення, які сприяють недорозвиненню ЦНС та індукції ембріональних пухлин, що свідчить про різноманітність молекулярно-генетичних механізмів їх індукції і росту. При МБ відзначають зміни не тільки гену *p53*, а й і інших супресорних онкогенів.

Спонтанне виникнення МБ у тварин відзначають при індукованих мутаціях генів каскаду *Gli1*, які супресують незалежний ембріональний сигнальний (*sonic hedgehog*) шлях активації проліферації клітин [102]. Останніми роками вивчають роль різних шляхів внутрішньоклітинної сигнальної активації проліферації ембріональних клітин та їх диференціювання. Один з шляхів активації проліферації та диференціювання — *Sonic Hedgehog (Shh)*, який стимулює проліферацію та диференціювання гранулярних клітин-попередниць нейронів з гранулярного шару ембріонального мозочка. Мутація одного з генів цього сигнального шляху спричиняє недорозвинення мозочка та виникнення МБ [102–105]. Так, при введенні 13-денним ембріонам мишей інгібіторів активації цього шляху, у тварин після народження виявляли МБ, а не інші пухлини, що свідчить про зв'язок виникнення цих новоутворень з дисфункцією *Shh* сигнального шляху [106]. *N-myc* ген — безпосередня і пряма мішень для *Shh* сигнального шляху, викликаючи прогресивну проліферацію та збільшення кількості гранулярних нейронів мозочка. Водночас активація *Shh* шляху контролюється іншим геном *Gli1*, мутація якого спричиняє гіперактивацію *Shh* шляху, неухильну проліферацію клітин-попередниць і виникнення МБ [102].

При мутації генів цього шляху і його активації виникає МБ, блокування активації, навпаки, гальмує проліферацію клітин пухлини [107]. Мітогенний вплив *Shh* шляху активації на попередників нервових клітин можна блокувати шляхом активації цАМФ і протеїнкінази А [104], хоча фізіологічні регулятори

цього шляху передачі проліферативного сигналу недостатньо вивчені [108]. Поряд з цими вже ідентифікованими генами, напряду пов'язаними з Shh шляхом активації клітин-попередниць, встановлений зв'язок з іншими генами, що кодують трансмембранні рецепторні білки, наприклад, smethened (sme), який також є пусковим рецептором цього сигнального шляху [105]. Трансмембранний білок Patched-1, будучи пусковим лігандом сигнального шляху, блокує активність інших трансмітерних протеїнів (зокрема sme), які, в свою чергу, здатні давати сигнал транскрипційним факторам [109]. Реалізація Shh шляху активації відбувається в основному в період диференціювання нейронів з клітин-попередниць, при його порушенні виникають МБ, що підтверджене даними експериментальних досліджень: якщо опромінити новонароджених або дорослих мишей, гетерозигот за геном Path (Path +/-), МБ виникає у 51% новонароджених і відсутня у дорослих тварин [110]. Ймовірно, мутація цього гена виникає у більшості МБ, які виникли у дитячому віці, тоді як у юнацькому і дорослому віці механізм виникнення МБ дещо інший. МБ, яка виникала внаслідок порушення Shh сигнального шляху, легко піддається впливу різних зовнішніх факторів, що спричиняє припинення подальшої проліферації і навіть спрямовує диференціювання пухлинних клітин у зрілі нейрони [102, 103]. На сьогоднішній день виявлено лише можливість подібного впливу на МБ, що в майбутньому може стати основною для застосування нового виду ХТ при таких пухлинах. Генетичні та молекулярні порушення у МБ зачіпають різні молекулярні механізми клітини, які D. Ellison [84] об'єднав у 3 групи: генні порушення регуляції клітинних циклів, механізмів транскрипції геному і сигнальних шляхів проліферації та диференціювання (табл. 1.1.3.1).

Таблиця 1.1.3.1.

Генно-молекулярні порушення у МБ (D. Ellison, 2002) [84].

Молекулярна мішень	Порушення	Частота виявлення, %	Зв'язок з прогнозом
Гени клітинного циклу			
Trp-53	Мутація	До 10	Асоційований з агресивним перебігом
МДН2	Мутація	До 20	Асоційований з агресивним перебігом
p15/p16	Делеція	Невідома	
СДК4 / цикли Д-1	Ампліфікація		
Гени факторів транскрипції			
Rax5	Безрегуляторна експресія	70	Зв'язок з проліферацією
Neuro D3	Безрегуляторна експресія	60	Зв'язок з метастазуванням
Myc	Надампліфікація	50	Зв'язок з агресивністю та анаплазією
Myc N	Ампліфікація	10	Зв'язок з агресивністю та анаплазією
Гени сигнальних шляхів нейрогенезу			
PNCh	Мутація	До 20	Зв'язок з анаплазією
Smoh	Мутація		
APC	Мутація	5	
β -catenin	Мутація	15	
Axin 1	Мутація		
Erb-B-2	Her-2-активація	30	Зв'язок з агресивністю
Trk-C	Суперекспресія	75	Зв'язок з сприятливим перебігом

Найчастіше (у 70% спостережень) виявляють зміни онкогенів, які відповідають за фактори транскрипції, вони добре асоціюються з метастазуванням і проліферацією клітин.

Вивчення біології МБ дозволило наблизитися до розуміння їх патогенезу і виявити експресію різних генів, залучених до онкогенезу. Виявилось, що в патогенезі МБ основну роль відіграють ті самі сигнальні шляхи, які в нормі регулюють розвиток тканини мозочка: Sonic Hedgehog SHH і Wnt / Wingless [111–114].

SHH сигнальний шлях — ключовий регулятор ембріогенезу, він контролює проліферацію та детерміновану загибель клітин. Основними рецепторами SHH сигнального шляху є Patched (PTCH), Smoothed (SMOH), suppressor of fused (SUFU) і glioma-associated oncogen homolog (GLI), основні гени-мішені — cyclin D2 і MYCN [115–121]. Спадкові мутації PTCH у більш ніж 50% спостережень спричиняють виникнення синдрому Горліна: збільшення розмірів тіла, гіпертелоризм, додаткові мальформації: сплющення спинки носа, розщеплення ребер, полідактилію, затримку розвитку [112].

Іншим, не менш важливим для розвитку ЦНС, сигнальним шляхом є Wnt / Wingless шлях — велике сімейство сигнальних молекул, які регулюють диференціювання, проліферацію і загибель клітин, а, за аберантного регулювання, — формування пухлин. Wnt — це комбінація Wg (wingless) і Int. Ген дрозофіли wingless спочатку був ідентифікований за рецесивною мутацією, що пригнічувала формування крил у мушки. Гомологічний ген хребетних Int 1 (Integration1) спочатку вивчали через наявність в його локусі кількох місць інтеграції геному вірусу раку молочних залоз миші. Дослідження функцій цих двох генів зумовило відкриття цілого класу лігандів, які регулюють ембріональний розвиток тварин. Основними рецепторами Wnt шляху є β -catenin (CTNNB1) і, меншою мірою, APC.

Мутації β -катеніну описані в більшості новоутворень, включаючи пухлину Вільмса, колоректальну, гепатоцелюлярну карциноми, гепатобластому, анапластичну карциному щитоподібної залози. Мutowаний

β -catenin стійкий до руйнівного впливу убіквітину або протеасом, що зумовлює його перехід з цитоплазми в ядро клітини і розвитку МБ [124].

Мутації гену APC спричиняють виникнення спадкового сімейного аденоматозного поліпозу, його носії схильні до розвитку колоректального раку і МБ (синдром Туркотта) [125–130]. При порівнянні генетичних порушень у МБ дорослих і дітей виявлені прогностичні маркери, залежні від віку хворого: ампліфікація CDK6, добавка 17q і втрата 10q мають несприятливе прогностичне значення у дорослих, ампліфікація MUC — у дітей [130–132].

Ймовірно, ці два цих сигнальних шляхи перетинаються між собою, їх взаємодія може відігравати важливу роль у патогенезі МБ, і, можливо, відкриє нові підходи до ефективного лікування з використанням комбінації їх інгібіторів [79, 84].

Можливе виникнення МБ і при інших спадкових синдромах, зокрема, синдромі Li-Fraumeni [45, 226], за якого у соматичних клітинах виявляють мутацію гена супресора p53 [93, 127], а також за таких рідкісних захворювань як синдром Блума, синдром пошкодження Неймегена, синдром тригоноцефалії Опіца, синдром Коффіна–Сириса [33, 45, 128].

Поглиблені дослідження в галузі генетики та молекулярної біології МБ дозволили запропонувати їх нову генетичну класифікацію, яка включає 4 основні групи пухлин (табл. 1.1.3.2). МБ — гетерогенна група пухлин, яким притаманні характерні молекулярно-генетичні, клінічні та прогностичні особливості у хворих різного віку [133].

За даними порівняльної геномної гібридизації array-CGH з високою роздільною здатністю виявлені тонкі порушення геному, визначені критичні ділянки ураження на рівні окремих генів, залучених до онкогенезу МБ у дорослих [134].

Таблиця 1.1.3.2.

**Молекулярно-генетична класифікація МБ за Kool M. [80] і
Nortcott P. [119, 129].**

Ознаки	Підгрупа МБ			
	WNT	SHH	Група D	Група С
Молекулярно-генетичні особливості	Wnt / TGF Мутації CTNNB1 NOTCH / PDGF Збільшення біосинтезу протеїнів клітинного циклу. Втрата хромосоми 6.	SHH. Мутації PTCH / SMO / SUFU NOTCH / PDGF. Фоторецепторне диференціювання. Втрата хромосоми 9q. Ампліфікація гена MYCN.	Нейрональне диференціювання. Фоторецепторне диференціювання. Втрата хромосом 8 і X. Добавка хромосом 18. Ізохромосома 17.	Фоторецепторне диференціювання. Збільшення біосинтезу протеїнів клітинного циклу. Втрата хромосом 8 і X. Добавка хромосоми 18. Ізохромосома 17. Ампліфікація гену MYC.
Гістологічний тип МБ	Класична	Десмопластична / нодулярна	Класична / анапластична	Класична / анапластична
Метастази	Дуже рідко	Дуже рідко	Часто	Часто
Вік хворих	Діти віком від 6 до 13 років	Діти молодше 3 років і дорослі	Діти	Діти молодшого віку
Прогноз	Дуже сприятливий	У немовлят — сприятливий, у решти хворих — проміжний	Проміжний	Несприятливий

Вивчення експресії різних генів методом експресійного профайлінгу дозволило встановити, що в патогенез МБ у дорослих залучені гени

сигнальних шляхів Sonic Hedgehog, Wnt / Wingless і гени, що контролюють синаптогенез, нейрональне диференціювання, рецептори глутамату тощо [135–137].

Запропонована молекулярно-генетична класифікація сприятиме оптимізації лікування хворих при МБ і дозволить зменшити токсичність променевої терапії (ПТ) і ХТ.

У дорослих при МБ за результатами експресійного профайлінгу генів виявлені три різних кластери генної експресії пухлин [119, 129]:

- 1) МБ, які експресують гени, асоційовані з Wnt сигнальним шляхом (група Wnt);
2. МБ, які експресують гени, асоційовані з SHH сигнальним шляхом (група SHH);
- 3) МБ, які експресують гени, асоційовані з контролем синаптогенезу, нейронального диференціювання, рецепторів глутамату (група D).

При зіставленні з клінічними даними виявлено, що пухлини Wnt групи найчастіше спостерігають у жінок, груп SHH і D — у чоловіків. Десмопластичні МБ і латеральна локалізація пухлин асоціюються з SHH групою. Множинні генетичні аберації (ампліфікація CDK6, добавка 17q, делеція 10q) виявлені у хворих групи D [132, 137, 138].

Втрату 6q і 9q спостерігали в Wnt і SHH групах, відповідно. Тривалість життя хворих дорослих групи D найменша. Тривалість життя дорослих хворих з пухлинами груп Wnt і D менша, ніж дітей [119].

Для визначення прогностичної ролі молекулярних маркерів і клінічних параметрів використано модель Кокса, найбільш несприятливий вплив на виживання мають ампліфікація CDK6, кількісні зміни на хромосомі 17, делеція хромосоми 10q (всі ці аберації відносяться до групи D) [139, 140]. Делеція 6q в поєднанні з ядерним накопиченням P-catenin, які є молекулярними еквівалентами Wnt групи, не має у дорослих хворих такого ж сприятливого прогностичного значення, як у дітей [84].

Таким чином, результати гістологічних і генетичних досліджень свідчать, що у МБ, незалежно від віку хворого, наявні значні порушення, які ускладнюють лікування та прогнозування його наслідків. В клітинах МБ міститься понад 150 генів, активність яких у 3–5 разів перевищує норму, та понад 100 генів, активність яких вдвічі нижча, ніж в нормі (у гліальних клітинах ГМ), що свідчить про складність як дослідження, так і класифікації таких новоутворень. Подальші комплексні молекулярно-генетичні дослідження дозволять глибше вивчити механізми виникнення МБ і розробити та нові стратегії лікування.

1.1.3.1. Молекули клітинної адгезії та інші молекулярні маркери пухлин головного мозку

Для МБ характерне раннє метастазування по лікворних шляхах та інфільтративний ріст— завдяки наявності на клітинах пухлини відповідних рецепторів і молекул клітинної адгезії (МКА).

Сьогодні велику увагу приділяють вивченню МКА, які відіграють ключову роль у процесах інфільтративного росту пухлин та їх метастазування, а також на етапах ембріогенезу, у підтримці гомеостазу, при запаленні тощо [141–145].

МКА забезпечують не тільки взаємодію між клітинами і позаклітинним оточенням, а й значною мірою визначають активацію певних генів, будову і структуру клітин, швидкість їх проліферації [141, 146, 147]. Серед МКА особливу групу складають молекули нейрональної клітинної адгезії (NCAM), представлені на клітинах різних органів, у тому числі, структур ЦНС.

NCAM виявляють практично в усіх нейроектодермальних пухлинах: астроцитомах, олігодендроастроцитомах, нейробластомах, ГБ, МБ, феохромоцитомах [143, 148].

Вміст NCAM на клітинах залежить від ступеня злоякісності пухлини. Так, NCAM виявлені у 95% астроцитом I і II ступеня анаплазії (у 19 з 20

зразків), у 38,9% анапластичних астроцитом, у 20% ГБ і МБ (відповідно, у 2 з 10 спостережень) [145, 149]. NCAM виявляють у різних пухлинах ГМ: за даними досліджень Sasaki H. і співавторів [150] на великому клінічному матеріалі (52 спостереження гліальних пухлин), всі форми NCAM наявні у астроцитомах I і II ступеня анаплазії, в гліомах III ступеня анаплазії і МБ їх менше. Експресія NCAM обернено пропорційно корелювала з проліферативним індексом pCIS та інвазивним ростом пухлини, який визначали за даними MPT [150]. Проте, Edelman J.M. і співавтори [143] показали, що NCAM експресуються як у гліомах, так і МБ й епендимоммах; експресія NCAM у цих новоутвореннях відрізнялася лише ступенем сіалування. Для астроцитом і епендимом характерний низький ступінь сіалування, для МБ — високий. Автори пов'язують ступінь сіалування NCAM з ступенем анаплазії пухлини [151].

Основним призначенням NCAM вважають адгезію і гальмування міграції клітин, хоча конкретні механізми цих процесів недостатньо вивчені. Встановлено, що рухливість клітин гліоми та прилипання їх до позаклітинного матриксу залежать від активності нерцепторної тирозинкінази, активація якої пригнічує рухливість клітин шляхом посилення експресії NCAM [152].

Діагностика зазначених порушень NCAM у МБ та інших пухлинах є важливою для прогнозування результатів лікування, а також особливостей їх інфільтративного росту та метастазування.

Поряд з МКА важливе значення для пухлинного процесу має апоптоз — один з основних механізмів захисту тканин організму від численних факторів, які спричиняють пошкодження ДНК [141, 142, 147]. Внутрішньоклітинні механізми апоптозу досить складні, їх запускають різні чинники через поверхневі рецептори апоптозу, з яких найбільш вивченим є Fas-рецептор/APO-1 (CD-95), названий «рецептор апоптозу» або «рецептор смерті» [153–155]. Fas-рецептор наявний на клітинах пухлин різного генезу, у тому числі, новоутворень ГМ [153, 156, 157]. Fas-рецептор експресується не

на всіх типах пухлин, його експресія і чутливість новоутворень, зокрема, ГБ до Fas-опосередкованого апоптозу обернено пропорційно корелює з експресією антиапоптотичного гену BCL-2 [158].

Fas-рецептор виявлений у всіх спостереженнях ГБ, у 50% астроцитом (у 6 з 12 спостережень), у 25% пілоцитарних астроцитом (в 1 з 4 спостережень), що дозволило авторам пов'язати експресію його рецептора з ступенем анаплазії пухлини [157–159]. Водночас, в інших злоякісних пухлинах ГМ, зокрема, МБ, експресія Fas-рецептора вивчена недостатньо [160]. Подальше вивчення експресії таких молекулярних маркерів (предикторів) пухлинного процесу як Fas-рецептор апоптозу, NCAM, різних рецепторів факторів росту пухлини у МБ у віковому аспекті дозволить глибше розуміти причини та механізми виникнення цих новоутворень.

1.1.4. Роль стовбурових клітин в онкогенезі

Останнім часом особливу увагу приділяють вивченню природи й ролі СПК в індукції, рості та рецидивуванні злоякісних новоутворень (легень, печінки, кишечника, простати, кісткового мозку, ГМ, зокрема, гліобластом (ГБ) і МБ) [161–165]. З СПК пов'язаний інфільтративний ріст, метастазування, резистентність пухлини до ПТ і ХТ [156, 167]. Біологічні властивості вивчені СПК достатньо вивчені, проте, їх походження та механізми розвитку до кінця не з'ясовані. Спірним залишається питання щодо ролі СПК в індукції первинного пухлинного вогнища, а також їх походження: ці клітини розвиваються з інтактних нервових стовбурових клітин ГМ, або ж вони виникають внаслідок генетичних мутацій і порушення диференціювання, як це передбачає одна з гіпотез [167, 168]. За вмістом СПК намагаються визначити не тільки прогноз захворювання, тривалість життя хворих, а й ефективність комбінованого лікування [151, 164, 167]. Роль СПК у виникненні ГБ доведена, на відміну від МБ, особливо у дорослих пацієнтів [169], проте, враховуючи подібність ГБ і МБ за ступенем анаплазії, можна

посилатися на результати досліджень на злоякісних гліомах. На сьогоднішній день відзначається лавиноподібний потік нових даних щодо СПК як експериментальних, так і клінічних, які сприяють трансформації уявлень про патогенез злоякісних гліом, причини недостатньої ефективності різних видів лікування і, нарешті, відкривають нові можливості впливу на злоякісні пухлини [170–174]. Крім вже описаних властивостей СПК гліом [161, 170], зокрема, високої міграційної здатності, хіміо- та радіорезистентності, здатності індукувати ріст гліом в експерименті, додатково встановлено, що СПК активно взаємодіють з мікрооточенням, інтактними нервовими клітинами ГМ і використовують їх в онкогенезі [166, 168, 175]. Так, Dong Y. і співавтори [176] в експерименті вивчали властивості СПК ГБ людини, які трансплантували у ГМ генетично модифікованих бестимусних мишей з ослабленою імунною системою (“nude” мишей). У цих тварин відсутні імунні реакції відторгнення алло- і ксенотрансплантатів. Так, при стереотаксичному введенні 1×10^4 СПК гліоми людини, які експресують молекулу CD-133, в каудальне ядро ГМ миші на глибину 3,4 мм, вже через 5–6 діб ці клітини виявляли у різних відділах ГМ, включаючи субвентрикулярну зону, під павутинний простір і м’яку оболонку ГМ. Через 10–19 діб клітини пухлини виявляли у ГМ повсюдно, навіть у протилежній півкулі, що свідчить про високу міграційну здатність CD-133+ СПК людини, навіть у ксеногенній системі, у ГМ мишей.

Іншим важливим чинником є те, що де б не локалізувалися у ГМ СПК після міграції, вони розмножувалися і спричиняли виникнення пухлин, гістологічний тип яких визначався локалізацією СПК. Так, якщо пухлина виникала за місцем введення СПК, у каудальному ядрі або прилеглих ділянках ГМ, то її структура нагадувала мультиформну ГБ людини; структура пухлини в субпендімарному шарі була подібною до епендимоцитом, в хоріоїдному сплетенні — до карциноми. Поліморфізм пухлин, індукованих СПК ГБ людини, отримав назву «диференційної мімікрії» СПК [176], зумовленої, з одного боку, плюрипотентними

властивостями СПК, з іншого — їх клітинним мікрооточенням, що визначало гістоструктуру нового новоутворення — від гліобластоми до епендимоми і МБ. Отже, встановлено, що СПК людини здатні до «диференційної мімікрії» у ГМ залежно від місця їх локалізації.

За результатами конфокальної мікроскопії окремих пухлинних вогнищ у ГМ, які виникли після введення мишам СПК ГБ людини, Dong Y. і співавтори [176] встановили, що по периферії пухлинного вузла локалізовані незвичайні гібридні клітини, які містили як антигени людини (HLA антигени), так і антигени миші. На думку авторів, це свідчить про злиття СПК людини з ксеногенними клітинами ГМ миші, тобто звану «клітинну інфузію». Особливо багато таких клітин у «прикордонній» зоні пухлинного вогнища, вони містять 4 і більше ядерць, що вказує на формування нового гібридного типу клітин, ймовірно, з більш злякисними властивостями, більшою здатністю до інвазії та міграції. Здатність до злиття інтактних і пухлинних клітин добре відома з загальної онкології, її виявляють за різного типу раку.

Злиття пухлинних клітин з інтактними вважають супроводжується зміною числа хромосом у клітині і спричиняє передачу пухлинних властивостей від пухлинних клітин інтактним і, таким чином, залученню до пухлинного процесу інших, не пухлинних клітин [177]. Феномен «злиття» СПК гліом людини з інтактними клітинами ГМ миші певною мірою пояснює значну швидкість росту пухлинних вузлів, це відбувається за рахунок залучення до процесів малігнізації та проліферації інтактних клітин організму господаря. Крім того, це є непрямым поясненням впливу локалізації СПК на тип пухлини, що виникає, тобто чому в одному спостереженні з типових гліобластомних клітин виникає епендимома або МБ, в іншому — карцинома, — після злиття СПК з інтактними клітинами химерні гібриди частково зберігають гістологічні властивості, що й зумовлює формування пухлин різного типу. Dong Y. і співавтори [176] схильні вважати здатність СПК до злиття з інтактними клітинами ознакою високої

злякисності СПК, а гібридні клітини, які утворюються, на думку авторів, є більш злякисними, зокрема, здатні до інфільтративного росту.

СПК здатні індукувати ріст судин як всередині пухлинного вогнища, так і по його периферії при інфільтративному рості новоутворення. СПК сприяють утворенню нової судинної мережі з невеликою кількістю ендотеліальних клітин мікросудин ГМ миші. Виявлено залежність локалізації СПК у дрібних і крупних судинах пухлин [176]. Так, стінка дрібних судин оточена одним шаром СПК, крупних — кількома шарами. Іноді в цих судинах виявляють клітини, які містять як антигени людини, так і миші, тобто це гібридні клітини, що утворилися внаслідок «злиття». Внутрішня мембрана таких судин нещільна, проникна для еритроцитів і навіть штучно введених мікрочастинок, які виявляють як всередині судини, так і за її межами, в оточенні СПК. Таким чином, СПК притаманна також «ангіогенна мімікрія», тобто здатність самостійно будувати судини для свого енергозабезпечення, використовуючи для цього гібридні клітини, також вони стимулюють ангіогенез ендотеліальних клітин інтактного ГМ, що робить пухлинне вогнище незалежним від ангіогенних факторів організму та особливостей кровотоку у ГМ.

Отже, СПК притаманні здатність до міграції, «злиття» з клітинами організму господаря, індукції росту судин, хіміо- і радіорезистентність, диференційна мімікрія, здатність індукувати ріст злякисних гліом в експерименті.

Незважаючи на такі «унікальні» властивості СПК, клінічних досліджень з вивчення їх впливу на розмір пухлин, особливості метастазування, тривалість безрецидивного періоду досить мало. Крім того, доведено, що і доброякісні гліальні пухлини мають СПК, їх вміст як у злякисних, так і доброякісних новоутвореннях коливається від одного до десятків відсотків [170, 172, 177].

Відкритим залишається питання про хіміо- та радіорезистентності СПК і особливо CD-133 + СПК; розкривається все більше механізмів, за допомогою

яких в СПК відбувається репарація ДНК після опромінення, пригнічується апоптоз, відновлюється функція органел [179].

У дослідженні Tamura K. і співавторів [180] проаналізований вплив радіотерапії і ХТ на утримання CD-133+ клітин у пухлині, отримані результати автори зіставили з тривалістю ремісії та життя хворих. Автори провели комбіноване лікування 51 хворого з злоякісними пухлинам: хірургічне втручання, опромінення за допомогою лінійного прискорювача (сумарна доза 50 Гр), додаткове опромінення з використанням радіохірургії (у 25 хворих), ХТ (етопозид). Незважаючи на досить агресивну терапію, в усіх хворих через 4–8 міс відзначали рецидив захворювання, що підтверджувалося даними МРТ. Повторне ІГХ дослідження тканини пухлини після опромінення за допомогою лінійного прискорювача проводили у строки від 3 до 12 міс, у міру виникнення рецидиву. Відзначали наявність множинних вогнищ некрозу, збереження незміненої тканини пухлини, вміст CD-133+ СПК — до 20%. Вміст CD-133+ СПК у тканині пухлини після опромінення становив у середньому 15,3%, після первинної операції — не більше 1%, тобто кількість СПК збільшувалася у 15–20 разів. Результати дослідження дозволили авторам висловити власну точку зору щодо причин низької ефективності високодозної радіохірургії гліом: вона зумовлена не лише інфільтративним ростом пухлини, а й збереженням CD-133+ СПК у зоні опромінення, що зумовлює продовжений ріст новоутворення.

Незважаючи на певні успіхи експериментального вивчення біології СПК, клінічні дослідження, за винятком окремих публікацій, неоднозначні щодо ролі та прогностичного значення СПК, як при злоякісних гліомах, так і інших пухлинах ГМ, зокрема, МБ у пацієнтів різного віку [181]. Так, якщо МБ у дітей пов'язують з онкотрансформацією ембріональних стовбурових нервових клітин мозочка у СПК, то яким чином виникають СПК у МБ у дорослих осіб і чи подібні вони до СПК у дітей, невідомо. Виникає багато подібних питань, їх розв'язання дозволить покращити результати лікування пацієнтів при злоякісних пухлинах.

На сьогоднішній день відомі як мінімум 6 «терапевтичних стратегій» [182], спрямованих на СПК: стимуляція диференціювання СПК; вплив на фізіологічні ніші, в яких локалізовані СПК, та їх руйнування; пригнічення міграційної та хіміорезистентної здатності; імуно- та вірусолітичний вплив на СПК. СПК вивчають, як правило, в експерименті [183].

1.1.5. Роль вірусів в патогенезі пухлин головного мозку

Впродовж останніх десятиліть актуальним є питання про роль вірусів у виникненні пухлин ГМ. За даними More P.S. і Chang J. [184], лише 7 вірусів є абсолютно онкогенними, доведено, що їх наявність спричиняє виникнення пухлин у людини, на них припадає 14–15% в структурі усіх новоутворень людини. На думку авторів, всю онкологію можна розділити на «інфекційну» і «неінфекційну». Зіставляючи вірусну інфекцію і онкогенез, можна виявити багато подібних ознак, зокрема, хронічне запалення, реакції природженого імунітету, супресія імунітету тощо. За даними епідеміологічних досліджень, ризик виникнення пухлин ГМ підвищений у дітей, чії матері були заражені різними вірусами під час вагітності, що свідчить про потенційну роль вірусів у виникненні новоутворень ГМ [185, 186]. Це, в першу чергу, віруси вітряної віспи, епідемічного паротиту, краснухи та поліоми. Проте, більшість досліджень присвячені вивченню поліомавірусів, як можливій інфекційній причині виникнення пухлин ГМ. Зараження вірусом поліоми (SV-40, JC) жінок під час вакцинації проти поліомієліту у 50-х і 60-х рр. XX ст. спричинило збільшення частоти виявлення пухлин ГМ, особливо МБ, у їх дітей [187]. Серед дослідників точиться дискусія з приводу поліомавірусів, виявлених у зразках тканини пухлин людини [188], проте, остаточних доказів того, що поліомавіруси спричиняють виникнення пухлин ГМ, зокрема, МБ у доросли, немає.

Роль гепесвірусів, особливо ЦМВ, в індукції пухлин людини дискутується давно, їх почали вивчати ще у 70-х рр. XX ст. [189, 190]. ЦМВ

часто виявляють у тканині пухлин, проте, питання щодо його ролі в онкогенезі остаточно не вирішене. ЦМВ нерідко виявляють у тканині карцином грудної залози, кишечника, шлунка, простати, слинної залози, а також, майже у 90 – 100% спостережень — у гліобlastомах і злоякісних МБ [191–195].

На початку ХХІ ст. завдяки вдосконаленню молекулярно-генетичних і ІГХ методів дослідження виявлені нові дані щодо зв'язку ЦМВ і злоякісних пухлин ГМ. Так, незважаючи на наявність в пухлині вірусних антигенів, виявлених за допомогою ІГХ методів, виділити і культивувати сам ЦМВ за допомогою класичних вірусологічних методів вдається не завжди, що змусило прибічників вірусної теорії онкогенезу запропонувати гіпотезу “hit and run” (удар і тікай) [194, 196]. Дещо пізніше запропонований ще один термін — «мікроінфекція» ЦМВ — для пояснення суперечливих даних щодо ролі вірусу в індукції новоутворень; зазначається, що суперечливість даних спричинена недосконалістю методів дослідження, використаних різними авторами [196, 197]. Проте, навіть застосування сучасних ІГХ, генно-молекулярних методів, зокрема, полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), не завжди дозволяє виявляти ЦМВ у зразках пухлини [198, 199].

Прибічники теорії ЦМВ нейроонкогенезу наводять багато доказів на її користь. Так, показано, що US-28-хемокіновий рецептор ЦМВ може зв'язуватися з хемокіновими рецепторами клітин, активуючи їх та стимулюючи проліферацію, синтез проангіогенних чинників, зокрема судинно-ендотеліального фактора росту. Введення мишам гліальних клітин, які експресують протеїн US-28, активує транскрипцію та трансдукцію клітин STAT-3, сприяє виникненню пухлин [200, 201]. Також було показано, що надранні протеїни ЦМВ, кодовані генами 23/122, відповідальні за вірусну реплікацію, здатні індукувати виникнення ГБ [202].

Багато аспектів впливу ЦМВ на інші внутрішньопухлинні процеси, зокрема, імуносупресію, не з'ясовані. ЦМВ індукує імуносупресію в пухлині, тим самим сприяючи її росту та пригніченню протипухлинного імунітету.

Так, рр65 протеїн ЦМВ, який кількісно переважає інші білки вірусу, здатний пригнічувати активність НК, синтез інтерферону, руйнувати HLA-DR молекули на мембрані лімфоцитів [203]. Інфіковані ЦМВ моноцити синтезують так званий ЦМВ-залежний інтерлейкін (ІЛ)-10, що зв'язується з відповідним рецептором клітин і активує STAT-3 транскрипційний фактор [204, 205], який є ключовою молекулою канцерогенезу та імунної супресії в пухлині [205, 206]. Крім того, ЦМВ-індукований ІЛ-10 пригнічує синтез прозапальних цитокінів [204], проліферацію попередників моноцитів [207], сприяє перетворенню прозапальних М-1 моноцитів на імуносупресивні М-2 моноцити, які пригнічують функцію імунних клітин [208, 209]. Наявність М-2 моноцитів в пухлині вважають несприятливою прогностичною ознакою [208, 209]. ЦМВ-інфекція може бути не лише безпосередньою причиною виникнення пухлини, а й опосередковано стимулювати ріст і анаплазію новоутворення через імунні механізми.

Виділяють два етапи взаємодії ЦМВ і пухлини [210]. І етап — ЦМВ через рецептор тромбоцитарного фактора росту з'єднується з стовбуровою нервовою клітиною і активує в ній STAT-3 фактор, що спричиняє міграцію клітини і синтез ІЛ-10, в подальшому цей цитокін впливає на моноцити, перетворюючи їх на М-2 клітини. ІІ етап взаємодії ЦМВ і пухлини пов'язаний з М-2 моноцитами, які накопичуються у пухлинному вогнищі та опосередковано стимулюють його ріст, впливаючи на ангиогенез, імунну відповідь, міграцію та інвазію клітин новоутворення [191, 210]. Можна стверджувати, що взаємодія ЦМВ з клітинами організму спричиняє онкомодуляцію або індукцію пухлини за рахунок різних внутрішньоклітинних механізмів, що зумовлюють блокування і гальмування одних та стимуляцію інших внутрішньоклітинних процесів [192, 210].

ЦМВ може зв'язується з НСК, впливати на ангиогенез в пухлині, активувати молекулу STAT-3 і стимулювати проліферацію клітин пухлини [202, 210]. Так, незмінені НСК ГМ експресують рецептор тромбоцитарного чинника росту, який може з'єднуватися з одним з gB-протеїнів ЦМВ, що

сприяє проникненню вірусу до стовбурової клітини, його розмноженню з подальшою активацією фосфоінозитидин-3-кіназного сигнального шляху, відповідального за процеси проліферації [211]. Показано, що ЦМВ може інфікувати НСК здорових осіб, спричиняючи їх трансформацію в пухлинні стовбурові клітини [212]. Припущення про роль ЦМВ-інфікованих НСК в онкогенезі гліобластом підтверджене тим, що у первинній культурі клітин гліобластом, у якій не було стовбурових пухлинних клітин, ЦМВ також не виявляли і, навпаки, в культурі клітин гліобластом, в якій були НСК, виявляли ЦМВ-протеїни [206, 212].

Таким чином, крім безпосереднього впливу ЦМВ-інфекції на ріст пухлини, доведений ще один механізм її онкомодуючого впливу на злоякісні пухлини через стовбурові пухлинні клітини і моноцити. Мікрооточення у пухлинному вогнищі, а саме макрофаги, моноцити і НСК можуть бути резервуаром вірусу, хоча їх частка досить невелика [192, 212].

Незважаючи на численні клініко-теоретичні дослідження зв'язку ЦМВ і нейроонкогенезу, зберігається песимістичне ставлення до ролі ЦМВ в індукції пухлин ГМ. ЦМВ-онкогенну теорію виникнення пухлин ГМ, зокрема, гліобластом і МБ визнають не всі дослідники [198, 199]. Клінічне значення експресії протеїнів ЦМВ у клітинах злоякісних пухлин досліджене недостатньо, опубліковані поодинокі роботи, в яких проаналізовано тривалість життя таких пацієнтів. Так, у 35 з 37 спостережень МБ мозочка виявлено високу концентрацію білків ЦМВ [213]. Період спостереження у середньому становив 87 міс: померли 7 (28%) хворих, метастази спостерігали у 5 (20%). Також автори описали спостереження 12 МБ без контамінації ЦМВ або вкрай низькою концентрацією вірусу; період спостереження у середньому становив 53 міс. За цей час померли 50% хворих, метастази виявлені у 42%. Таким чином, ЦМВ-інфекція може бути прогностичним чинником [213]. Деякі інші результати наводять Вагунно J.C. та співавтори [212] на основі аналізу тривалості життя 80 пацієнтів з ГМ, яких лікували хірургічним методом в поєднанні з ПТ. Хворі розподілені на 2 групи по 40

осіб залежно від тривалості їх життя: до 18 міс і більше 18 міс. 40% хворих II групи з низьким вмістом ЦМВ в пухлині жили більше 42 міс, за високої концентрації вірусу тривалість життя пацієнтів не перевищувала 24 міс. 70% хворих за високого вмісту ЦМВ у пухлинах жили 8–14 міс. Отже, високий вміст ЦМВ у тканині пухлини зумовлює зменшення тривалості життя пацієнта [212].

ЦМВ потенційна мішень для терапії пухлин головного мозку. Незважаючи на різні погляди щодо ролі ЦМВ у патогенезі пухлин, на сьогоднішній день широко вивчаються можливості практичного використання цього явища з метою вдосконалення методів лікування. Наявність у клітинах пухлин ЦМВ або його протеїнів зумовлює посилення їх антигенності, що використовують для отримання протипухлинних вакцин [216, 217]. Клінічне застосування таких вакцин підтвердило їх ефективність, збільшення тривалості безрецидивного періоду у хворих при гліомах [217, 219]. Наявність у клітинах новоутворення високо імуногенних антигенів ЦМВ дозволяє створити високо активні протипухлинні вакцини, здатні індукувати імунну відповідь не лише проти пухлинних (слабких) антигенів, а й ЦМВ-антигенів, що спричиняє некроз і загибель таких клітин [194, 216].

Крім створення протипухлинних вакцин на основі ЦМВ-інфікованих пухлин, досліджують можливість активації специфічних Т-клітин крові ЦМВ антигенами [219, 220]. Особливості запропонованої технології полягають в тому, що специфічні клітини-кілери проти ЦМВ можна отримати з крові «серонегативних» хворих (у яких ЦМВ-інфекцію не виявляли), натомість з крові «серопозитивних» пацієнтів не вдалося отримати такі специфічні Т-клітини *in vitro* [222, 223]. На сьогоднішній день специфічні ЦМВ кілерні клітини проходять клінічне дослідження.

Використання специфічних кілерних клітин до ЦМВ у 19 хворих з гліобластомами у поєднанні з темодалом сприяло збільшенню тривалості їх

життя до 403 діб, тривалість життя пацієнтів, яким здійснене лише хірургічне втручання, не перевищувала 6 міс. [223].

Триває пошук нових молекулярно-інженерних методів отримання «химерних» антигенів і рецепторів, які б склалися з протеїнів ЦМВ і певних антигенів клітини (наприклад, гепаринзв'язуючий рецептор (HER-2)), Використання такого «химерного» антигену дозволило отримати аутологічні ЦМВ-специфічні Т клітини, які зараз проходять клінічне випробування [220]. Крім того, триває пошук специфічних моноклональних антитіл проти «химерних» антигенів, які теж розглядаються як препарати для лікування пацієнтів з ЦМВ-інфікованими пухлинами.

Наразі широко використовують класичну противірусну терапію, зокрема, валганцикловір у хворих при ГБ, інфікованих ЦМВ [213, 214].

42 хворих при гліобlastомах, інфікованих ЦМВ, лікували валганцикловіром у поєднанні з ПТ, тривалість життя хворих, які приймали валганцикловір більше 6 міс, перевищувала 4 роки [213, 224]. Аналогічні результати отримали в експерименті на мишах з МБ, інфікованою ЦМВ [215]. Отримані експериментальні докази ефективності не лише валганцикловіру, а й інгібіторів циклооксигенази-2 (СОХ-2) [214]. Клінічних досліджень лікування інгібіторами СОХ-2 хворих при пухлинах ГМ немає, хоча позитивний вплив цих препаратів відзначений при раку товстого кишечника [225–227].

Персистенція ЦМВ або наявність його протеїнів у клітинах пухлини може бути одним з об'єктів сучасних досліджень з метою розробки нових методів лікування при злоякісних пухлинах, зокрема, МБ і гліомах.

Існують інші, більш песимістичні, погляди на можливості противірусної терапії при МБ і гліобlastомах, проте, Ranganathan P.A. і співавтори [212] вважають такі рекомендації передчасними, опубліковані з цього приводу дослідження можна вважати скоріше експериментальними, ніж клінічними.

На сьогоднішній день більшість авторів зазначають необхідність проведення подальших досліджень, розробки нових схем лікування [215].

У 2011 р. на сумісному симпозиумі нейрохірургів і вірусологів у Нью-Йорку прийняте рішення про необхідність подальших досліджень ролі ЦМВ в виникненні пухлин ГМ, рекомендоване використання противірусної терапії у комбінованому лікуванні гліом, поки що коректно говорити лише про вірусасоційовані гліобластоми і МБ [228].

У зв'язку з цим важливим є подальше вивчення вмісту ЦМВ й інших нейро- і онковірусів у пухлинах ГМ різного гістогенезу та ступеня анаплазії з використанням генно-молекулярних методів, зокрема, ПЛР, що дозволяє з високою точністю оцінити наявність ДНК- і РНК-вірусів у різних біологічних об'єктах.

1.2. Клінічні прояви та діагностика медулобластом у дорослих

Клінічні прояви МБ у дорослих детально описані в роботах вітчизняних і зарубіжних дослідників ХХ ст. Так, за даними Hubbard J. [229], у 80% спостережень МБ дорослих виявляють у хворих віком від 21 до 40 років. Характерною особливістю цих пухлин є короткий анамнез захворювання — зазвичай від 2 до 6 міс [3, 5, 6, 8]. Як правило, першими ознаками захворювання є головний біль, нудота, мозочкові і загально мозкові симптоми, застійні диски зорових нервів внаслідок оклюзійної гідроцефалії та локалізації новоутворення. Гідроцефалію різного ступеня виявляють у більшості (до 85%) хворих [230]. На початковій стадії захворювання пацієнти найчастіше скаржаться на головний біль (80%), нудоту та блювання (78%), атаксію (73%).

Загально мозкові симптоми (головний біль вранці, блювання) впродовж тривалого періоду часу переважають над вогнищевими [230]. Зазначені порушення спричинені гідроцефалією, яка виникає внаслідок блокади

лікворних шляхів. Порушення функцій мозочка (порушення координації, статички, ходи) можуть бути різної інтенсивності — вони зумовлені розширенням сільвієвого водопроводу, зміщенням мозочка у тенторіальний отвір, стисканням середнього мозку, набряком внаслідок порушення ліквороциркуляції та кровообігу. При інфільтрації пухлиною стовбура мозку виникають стовбурові симптоми: спонтанний ністагм, зменшення вираженості рогівкового рефлексу, парез погляду, порушення конвергенції, бульбарні порушення. Вогнищеві симптоми при локалізації пухлини у ЗЧЯ: дизартрія, дисфонія, дисфагія. При інфільтрації пухлиною оболонок ГМ або її проростанні у велику цистерну мозку можуть виникати менінгеальні симптоми [230, 231]. Порушення зору, зокрема, вторинна атрофія зорового нерва виникають внаслідок застою на очному дні та крововиливу у сітківку.

Також у хворих при МБ можливі фебрилітет, анорексія, виснаження, атрофія та сухість шкіри [6, 230]. При метастазах у кістки хворі скаржаться на виражений біль, рідше «плюс-тканину» відзначають в ділянці ураження.

Діагностика МБ основана на клінічних даних, доповнених даними сучасних методів нейровізуалізації: КТ, МРТ, ПЕТ. Основним дослідженням для діагностики МБ і визначення групи клінічного ризику вважають МРТ з контрастним підсиленням. Також до виконання операції рекомендують провести спінальну МРТ для виявлення метастазів у оболонках спинного мозку [231]. Для діагностики лептоменінгеальної дисемінації оптимальним є поєднання спінальної МРТ та цитологічного дослідження СМР [231, 232]. При пухлинах ЦНС МРТ-сигнал у T1-режимі, як правило, низькоінтенсивний і посилюється при контрастуванні. У T2-режимі солідний компонент новоутворення дає проміжний сигнал — між сірою і білою речовиною ГМ. На FLAIR-знімках сигнал може бути ізоінтенсивним, подібним до такого від сірої речовини ГМ. Більшість пухлин ЦНС у T2- і FLAIR-режимах дають більш інтенсивний сигнал, ніж сіра речовина ГМ [234]. Як правило, розміри МБ не перевищують 3–5 см. Для МБ не характерні кісти або великі ділянки некрозу, крововиливу. За даними КТ МБ дає

гіперденсивний сигнал, подібний до такого тканини мозочка. У 10% спостережень виявляють кальцинати [3, 235].

Як правило, за даними МРТ або КТ при МБ виявляють тривентрикулярну гідроцефалію різної вираженості. Щодо метастазів при МБ, їх виявляють у T1-режимі при контрастуванні у вигляді поодиноких або множинних вузлів, або накопичення контрастної речовини в оболонках ГМ і спинного мозку. Метастази можна виявити і без контрастування, особливо якщо сама пухлина диференціюється без контрастування. Метастази можна виявити у T2-режимі у вигляді деформації субарахноїдального простору.

Для МБ характерні менінгеальна (при поширенні у межах ЗЧЯ) та лікворна (при залученні IV шлуночка) дисемінація [230, 236, 237]. Найчастіше метастази виявляють у субарахноїдальному просторі, спинномозковому каналі або супратенторіально, рідше — у речовині ГМ і спинного мозку [238, 239]. Метастази поза ЦНС та гематогенні метастази під час первинної діагностики виявляють вкрай рідко. Описані спостереження метастазів МБ за ходом вентрикулоперитонеального шунта [239].

Позитронно-емісійна томографія (ПЕТ) — один з основних методів діагностики при пухлинах ГМ, який дозволяє визначити їх загальну метаболічну активність і на основі цього — ступінь анаплазії, відрізнити тканину новоутворення (залишкову, рецидив) від радіаційного некрозу. Для визначення метаболізму білка використовують 11-С-метіонін [240–242]. Високий ступінь поглинання 11-С-метіоніну є достовірною ознакою злоякісності пухлини [241, 243]. Після операції необхідне проведення МРТ ГМ для оцінки її радикальності, виявлення метастазів у шлуночках і оболонках ГМ, а також МРТ спинного мозку, цитологічне дослідження СМР. Якщо у СМР через 7–10 діб виявляють атипові клітини, повторну ЛП необхідно виконати через 3 тиж після хірургічного втручання.

КТ і мієлографія можуть бути використані, якщо проведення МРТ неможливе [6, 230].

1.3. Лікування дорослих при медулобластомах

Впродовж тривалого хірургічне лікування хворих при МБ було низько ефективним. «Лікування медулобластом задньої черепної ямки є найбільш похмурою сторінкою нейрохірургії», — писав у 1969 р. Matson D. [цит.6]. З 60 пацієнтів при МБ, оперованих Cushing H., лише 1 прожив, більше 3 років. «Завжди — втішити, часто — полегшити, іноді — врятувати», — у 1982 р. писав Yumans [цит. 6]. Застосування сучасних методів діагностики та хірургічного лікування при МБ дозволило значно покращити прогноз, проте, дотепер не розроблений оптимальний алгоритм лікування таких хворих. Понад 50 років дискутуються питання впливу на прогноз і тривалість життя хворих при МБ таких чинників як вік, гістологічний варіант пухлини, радикальність її видалення, строки виникнення рецидиву, поєднання хірургічних й інших методів лікування. Так, за даними дослідження Brandes A. [232], тривалість життя дорослих при МБ пов'язана з їх віком і не пов'язана з гістологічним варіантом пухлини; винятком є ліпоматозна МБ [25], прогноз за якої сприятливий, навіть за мультицентричного росту новоутворення або його часткової резекції. У молодих пацієнтів після субтотальної резекції міксопапілярної або високодиференційованої МБ ризик виникнення дисемінації досить високий [244, 245]. Подібних прикладів можна навести багато, проте, було досягнуто узгоджене, що лікування дорослих при МБ має бути комплексним: хірургічне втручання + ПТ і, можливо, ХТ. Так, Канадський протокол лікування дорослих при МБ (Alberta clinical practice guideline, 2010) включає такі пункти:

1. оцінка та планування лікування дорослих при МБ мають бути обговорені мультидисциплінарною командою фахівців;
2. первинна діагностика має включати цитологічне дослідження СМР і МРТ ГМ і всіх відділів хребта з урахуванням можливості наявності метастазів у ЦНС;

3. максимально безпечна хірургічна резекція з подальшою ПТ і, можливо, ад'ювантною ХТ — рекомендований алгоритм лікування дорослих при МБ. Необхідно видалити якомога більший об'єм чітко видимої пухлини;

4. ПТ на всі відділи головного та спинного мозку в дозі 36–40 Гр, після цього — на ділянку ЗЧЯ — 54–55,8 Гр, на метастази в інших відділах ЦНС — не менше 40 Гр. Одночасне застосування ХТ дозволяє використовувати більш низькі дози краніоспінального опромінення (23,4 Гр);

5. на відміну від МБ у дітей, роль ХТ у дорослих пацієнтів менш ясна. На основі екстраполяції педіатричних протоколів лікування ад'ювантну ХТ можна застосувати у дорослих для лікування рецидиву. На сьогоднішній день немає переконливих доказів на підтримку конкретного режиму ХТ у дорослих.

Залежно від виявлених при обстеженні знахідок, хворих можна розподілити на дві групи ризику, з огляду на обсяг резекції та стадіювання за класифікацією Chang. Група «середнього ризику» — хворі з залишками пухлини менше 1,5 см³, метастази відсутні, група «високого ризику» — залишки пухлини перевищують 1,5 см³, є метастази.

Остаточно не вирішений вплив стадії M1 на виживання. Гістологічні варіанти МБ, зокрема, з гігантськими клітинами або клітинними маркерами можуть асоціюватися з поганим прогнозом, проте, вони не є показником високого ризику рецидиву [244, 245]. ПТ або ХТ розпочинають через 3–4 тиж після операції, оскільки необхідний час для повного загоєння рани, неврологічного відновлення, визначення стадії захворювання.

1.3.1. Особливості хірургічної тактики при медулобластомах

Основна мета хірургічного лікування — максимальне видалення об'ємного утворення при збереженні високої якості життя хворих у післяопераційному періоді, визначення подальшої тактики лікування. Якщо пухлина мозочка не росте дифузно, відсутні лептоменінгеальні метастази, показання для проведення стереотаксичної або відкритої біопсії відсутні; її

видалення має бути тотальним або субтотальним. У пацієнтів, у яких залишається менше $1,5 \text{ см}^3$ пухлини за даними КТ і/або МРТ після операції, прогноз кращий [244, 245].

Інфільтрація пухлиною стовбура мозку до операції не впливає на прогноз [230, 244]. Видалення МБ, яка вросла в стовбур мозку і поширюється в дно IV шлуночка, є невиправданим, оскільки може спричинити серйозні неврологічні порушення.

Багатьом пацієнтам необхідна післяопераційна вентрикулостомія (зовнішнє вентрикулярне дренивання) для тимчасового виведення СМР, до усунення оклюзійної гідроцефалії. За відсутності регресу гідроцефалії встановлюють постійний вентрикулоперитонеальний шунт. Встановлення шунта не збільшує ризик поширення пухлини [239].

Для визначення ступеня поширення (метастазування) пухлини потрібне проведення МРТ і цитологічного дослідження. МРТ проводять, як правило, через 10–14 діб після операції, оскільки продукти крові у субарахноїдальному просторі можуть бути помилково інтерпретовані як метастази. В ці ж строки виконують люмбальну пункцію для цитологічного підтвердження поширення та метастазування пухлини. СМР з шлуночків ГМ для цитологічного дослідження не використовували, крім спостережень, у яких виконати ЛП було абсолютно неможливо [223].

Сканування кісток часто використовують для виявлення екстраневрального поширення пухлини, проте, виконувати біопсію кісток не рекомендують.

Хірургічне видалення пухлини є основним етапом лікування. Розвиток сучасної нейрохірургії, намагання видалити пухлину радикально вимагають більш точного визначення локалізації новоутворення, його поширення, відношень з навколишніми структурами. Це можливе завдяки вдосконаленню до- та інтраопераційної діагностики з використанням ангіографії, УЗД судин, КТ, МРТ, навігаційних систем, мікроскопа, виборчого забарвлення тканини пухлини спеціальними флуоресцентними

речовинами для кращої її візуалізації під час операції, електронейроміографії м'язів обличчя, язика, глотки під час резекції пухлини для запобігання виникнення паралічів [246, 247].

Враховуючи локалізацію МБ і значну частоту гідроцефалії, у деяких хворих першим етапом виконують вентрикулостомію, забирають спинно-мозкову рідину для цитологічного дослідження. Якщо вираженість гідроцефалії зменшується при внутрішньовенному введенні кортикостероїдів, можна проводити видалення пухлини одночасно з встановленням зовнішнього дренажа. [246].

Найчастіше здійснюють резекційну трепанацію з огляду на можливість виникнення набряку ГМ після операції та необхідність проведення подальшої ПТ. Іноді необхідне видалення задньої дужки I шийного хребця для доступу до мигдаликів мозочка. Розсічення ділянки з'єднання ніжок мозочка і стовбура ГМ може спричинити післяопераційний мутизм [247, 249].

Радикальне видалення пухлини єдиним блоком не завжди можливе, особливо за розгалуженої мережі нижньої мозочкової артерії або залучення стовбура ГМ [248, 249]. За лептоменінгеального поширення пухлини, не варто намагатися видалити її тотально. Після операції найчастіше, крім аутизму, виникають атаксія, мозочковий геміпарез, парез VI пари черепних нервів [249]. Після тотального або субтотального видалення пухлини постійне шунтування не потрібне, у решті випадків зовнішній дренаж залишають на 5–7 діб, до санації СМР від крові.

МБ, розташовані у мосто-мозочковому куті, видаляють з медіадіагонального або ретросигмоїдального доступу, з використанням резекційної трепанації.

Є кілька моментів, які визначають прогноз захворювання у дорослих при МБ, тактику подальшого лікування. Це, перш за все, радикальність видалення пухлини та її гістоструктура.

Прогрес хірургічної техніки (використання мікроскопа, ультразвукової аспірації), анестезіології та реаніматології значною мірою сприяли значному зниженню післяопераційної летальності [71, 250, 251, 260].

Радикальність видалення МБ є одним з найважливіших критеріїв успішного хірургічного лікування. З одного боку, максимально повна резекція пухлини є одним з основних критеріїв сприятливого прогнозу, з іншого — при проростанні дна ромбоподібної ямки, структур мостомозочкового кута спроби повністю видалити новоутворення можуть спричинити тяжкий неврологічний дефіцит або навіть необоротні вітальні розлади, значне збільшення тривалості лікування у нейрохірургічному стаціонарі. Тактика залишення мінімально можливого шару пухлини на дні ІV шлуночка з метою уникнення тяжких післяопераційних ускладнень є загальновизнаною [248, 250]. Albright A. і співавтори [250] пропонують такий умовний розподіл обсягу видалення пухлини: тотальне — у візуальних межах; практично-повне — понад 90% пухлини, проте, частину новоутворення не вдається видалити; субтотальне — видалення 51–90% пухлини; часткове — 11–50%; біопсія — не більше 10% пухлини. Деякі автори не розрізняють «майже тотальне» і «субтотальне» видалення пухлини, об'єднуючи їх поняттям «субтотальна резекція», тобто видалення 50–99% пухлини [6, 248, 251].

Прогрес хірургічної техніки (використання мікроскопа, ультразвукової аспірації), анестезіології та реаніматології сприяли значному зменшенню післяопераційної летальності. Останніми роками післяопераційна летальність дорослих з МБ мозочка майже нульова, дітей — суттєво зменшилася [6]. Озеров С.С. [6] наводить порівняльні дані післяопераційної летальності за період майже 80 років (табл. 1.3.1.1).

Parker R. [251] у 1986 р. писав: «У руках досвідченого хірурга післяопераційна летальність практично дорівнює нулю». Радикальність видалення МБ найважливішим критерієм успішної операції.

Обсяг видалення пухлини визначають за двома основними показниками: інтраопераційним спостереженням і даними КТ і МРТ після операції.

Таблиця 1.3.1.1.

Післяопераційна летальність при МБ

Автори	Період спостереження	Кількість хворих	Післяопераційна летальність, %
Cushing H.	До 1930 р.	не вказана	32
Алексеева В.С.*	До 1959 р.	65	12
Park T.	1950–1973 рр.	75	20
Hirsch J.	1964–1976 рр.	57	10,5
Raimondi A.	1966–1977 рр.	51	8
Park T.	1973–1980 рр.	60	0
Jenkin D.	1977–1987 рр.	77	0

Примітка. * — тільки дорослі пацієнти.

Радикальність видалення пухлини є важливим прогностичним фактором, проте, її вплив на прогноз захворювання залишається предметом дискусій. Так, за даними Parker R., у серії з 144 спостережень, за тотального видалення пухлини впродовж 5 років жили 59% хворих, субтотального — 49%, часткового — 30%. [251]. За даними Jenkin D. (дослідження за участю 72 хворих), після тотального видалення пухлини впродовж 5 років рецидив не виявлений у 93% пацієнтів, субтотального і часткового — у 45% [252]. Разом з тим, агресивне хірургічне лікування може спричинити тяжкий неврологічний дефіцит і вітальні розлади, зокрема, порушення дихання, ковтання, синдром мозочкового мутизму, порушення ходи та координації [246, 247]. Максимально безпечна хірургічна резекція з подальшою ПТ і,

можливо, ад'ювантною ХТ — рекомендована стратегія лікування дорослих при МБ. Видалення якомога більшого обсягу пухлини, за даними деяких авторів, корелює з кращим виживанням. За даними ретроспективного аналізу 32 спостережень дорослих при МБ, впродовж 5 років після тотальної резекції пухлини рецидив не виявлений у 89% хворих, після часткової — у 27% [253]. Після тотальної резекції МБ продовжений ріст у ділянці ЗЧЯ виявлений в 1 з 17 пацієнтів, після часткової — у 10 з 15 [250].

За результатами аналізу даних хірургічного лікування дорослих при МБ можна зробити висновок, що з часів Cushing Н., коли післяопераційна летальність сягала 30% і більше, на сьогоднішній день досягнуті значні успіхи в оперативному лікуванні таких хворих, післяопераційна летальність практично дорівнює нулю. Це можна пояснити суттєвим покращенням як діагностичного, так і хірургічного обладнання, майстерністю хірургів.

1.3.2. Променева терапія

МБ — радіочутлива пухлина, завдяки цьому впродовж багатьох років опромінення ЗЧЯ з додатковим краніоспінальним опроміненням є основою ад'ювантною терапією. Дорослих хворих піддають різному лікуванню залежно від радикальності резекції пухлини, наявності метастазів. Пацієнтів після неповного видалення МБ або з метастазами відносять до групи високого ризику, у них застосовують високі дози краніоспінального опромінення, агресивну ХТ. Після тотального або субтотального видалення МБ, за відсутності метастазів пацієнтів відносять до групи середнього ризику — це найбільш численна група хворих, яких лікують за допомогою середніх доз опромінення і ХТ. Використання клінічної стратифікації зумовило підвищення показників виживання пацієнтів обох груп [250, 253]. Враховуючи недостатньо ефективні результати лікування, актуальною є розробка нових, більше ефективних і менш токсичних його варіантів.

Радикальна ПТ (опромінення ложа пухлини, ГМ і всіх відділів спинномозкового каналу) на сьогоднішній день є стандартом лікування хворих при МБ. Методика запропонована ще у 1953 р. Paterson G. і Farr R. При опроміненні тільки ділянки ЗЧЯ не більше 5% хворих жили впродовж 10 років, більшість з них помирали протягом 2 років [252], при опроміненні ЗЧЯ і спинного мозку впродовж 10 років жили 25% пацієнтів. Загальноприйняті дози: на ділянку ЗЧЯ — 50–55 Гр, на ГМ і спинний мозок — 36–40 Гр (у хворих старше 3–4 років), тривалість опромінення 6–8 тиж [253].

Опромінення ГМ і спинного мозку з локальним впливом на первинне вогнище сприяло збільшенню показника виживання хворих з 20 до 50% [254, 255]. Враховуючи можливість дисемінації МБ у межах ЦНС, ПТ проводять за так званою «радикальною» програмою, з посиленням впливом на первинне вогнище і профілактичним опроміненням всіх відділів ЦНС за відсутності метастазів [326]. За даними різних авторів, впродовж 5 років після ПТ (без ХТ) рецидив захворювання не відзначали у 50–60% хворих [254, 256, 257], і навіть у 78% [258–260]. Слід зазначити, що ці показники є кращими за останні 20 років.

З іншого боку, при розподілі хворих на групу стандартного і групу підвищеного ризику результати лікування виявляються різними. Так, за даними Evans A. і співавторів [261], хворих, яким в якості додаткового лікування призначали тільки ПТ, розподілено на дві групи: 41 пацієнт включений до групи стандартного ризику (M0 стадія), 26 — до групи високого ризику (M1–3 стадія). Впродовж 5 років рецидив захворювання відсутній у 65% хворих групи стандартного ризику і в жодного хворого з групи високого ризику.

1.3.2.1. Схеми та дози краніоспінальної променевої терапії.

Останнім часом розробляють і широко впроваджують в клінічну практику методику «гіперфракційного» опромінення з метою зменшення частоти ранніх і пізніх ускладнень ПТ [262–265]. При локальному опроміненні застосовують дозу 1–1,2 Гр двічі на день до сумарної дози 72–78 Гр. Цей метод дозволяє також підвищити загальну дозу опромінення на пухлину без збільшення токсичності. Оpubліковані результати кількох досліджень, в яких використовували гіперфракційну ПТ:

Allen J.C. і співавтори (1989–1995 рр.): 15 хворим при МБ групи стандартного ризику і 8 хворим групи високого ризику проведена гіперфракційна ПТ (36 Гр на нейроаксис по 1 Гр двічі на день і 72 Гр на ЗЧЯ за 72 фракції) з подальшою ад'ювантною ПХТ впродовж 9 міс. Впродовж 6,5 років жили 95% хворих групи стандартного ризику, 5 з 7 пацієнтів групи високого ризику померли через рецидив [265].

Marymont M.R. і співавтори (1986–1991 рр.): 13 пацієнтам групи високого ризику (в 11 — при МБ, у 2 — при супратенторіальних ПНЕП) проведена гіперфракційна ПТ з ПХТ. Це дослідження показало можливість використання гіперфракційної ПТ при МБ [266].

Prados M.D. і співавтори (1999 р.) у 25 хворих при МБ використовували дозу 72 Гр на ЗЧЯ. Краніоспінальна доза — 30 Гр. ПХТ не проводили у хворих групи стандартного ризику, пацієнтам групи високого ризику призначали ад'ювантну ПХТ (вінкристин, ломустин, цисплатин). Впродовж 3 років жили 16 (63%) хворих групи стандартного ризику і 9 (56%) — групи високого ризику [267]. За даними дослідження, КСПТ в дозі 30 Гр без ад'ювантної ХТ не дозволяє запобігти краніоспінальному поширенню новоутворення.

Bannering V. і співавтори (2001–2006 рр.): у дослідження включені 339 хворих з 10 країн Європи, вік пацієнтів від 3 до 21 року; у 85% спостережень виявлена класична МБ. 168 (49,6%) хворих призначали гіперфракційну ПТ

(36/60/36 Гр = ГМ / ЗЧЯ / спинний мозок), 171 (50,4%) — стандартну ПТ (23,4/54/23,4 Гр) з подальшою підтримуючою ПХТ (VCR / CCNU / Cisplatin) — 8 циклів. Показник без рецидивного виживання впродовж 2 років становив у середньому $(0,87 \pm 0,02)$ [264].

Таким чином, лікування з використанням гіперфракційної ПТ вимагає подальших досліджень.

У хворих з залишковою МБ або рецидивом захворювання застосована стереотаксична радіохірургія, у тому числі, фракційна [269–271]. Це сприяло покращенню показників виживання деяких пацієнтів, особливо тих, кому цей вид терапії призначали у складі початкового лікування [308, 340]. Проте, великі рандомізовані дослідження з застосуванням стереотаксичної радіохірургії при МБ не проводилися.

Крім того, у комплексному лікуванні хворих при МБ можна застосувати протонне опромінення з метою зменшення нейро- і ототоксичного ефектів [272]. За даними дослідження Howell R.M. і співавторів [268], при КСПТ протонами ізодоза в об'ємі, що опромінюється, розподіляється більш рівномірно, ніж при опроміненні фотонами, патогенний вплив на такі органи як стравохід, серце, легені, щитовидна залоза, печінка, нирки значно менший. Ризик виникнення ускладнень у віддаленому періоді при опроміненні протонами значно нижчий. Водночас, у дослідженні Jones V. і співавторів [272], відзначено, що зменшення дози при КСПТ протонами у пацієнтів з стадією захворювання M0 може спричинити «недоопромінення» вогнищ і збільшення частоти рецидивів. Тобто дози КСПТ при опроміненні протонами потребують доопрацювання [274, 275].

Незважаючи на тривалий час, що минув з моменту перших спроб використання ПТ при МБ, питання раціональної та індивідуалізованої методики опромінення, фракціонування дози, величини разових і сумарних доз залежно від віку хворого, поширення пухлини, ступеня її анаплазії не до кінця вирішені. Їх розв'язання сприятиме збільшенню показників сприятливого перебігу захворювання, безрецидивного виживання,

супроводжуватиметься зменшенням частоти ускладнень у віддаленому періоді, покращенням якості життя хворих.

1.3.2.2. Ускладнення променевої терапії

До ранніх ускладнень ПТ відносять погіршення неврологічного статусу внаслідок набряку ГМ, незначну еритему шкіри, які можуть виникнути протягом 1-го тижня лікування. Більш тяжкі реакції виникають після 4-го тижня лікування, зазвичай це помірно виражена еритема і сухе лущення шкіри, проте, можлива волога десквамація за вухами. На тлі проведення КСПТ може виникнути тимчасова мієлосупресія.

Короткочасні симптоми, зумовлені тимчасовою демієлінізацією, можна спостерігати у строки від 6 до 8 тиж після опромінення, їх відносять до ранніх відстрочених ускладнень. Синдром сомнолентності характеризується летаргією, анорексією, а головним болем, які зазвичай тривають близько 2 тиж. Синдром Лерміта: відчуття електричного розряду по хребту і кінцівках при згинанні шиї (зазвичай проявляється на 8-му тиж після завершення опромінення, триває до 3 міс) [274].

До пізніх ускладнень КСПТ відносять порушення з боку ЦНС, спричинені пошкодженням гліальних клітин (особливо олігодендроцитів) та порушенням васкуляризації. Пошкодження клітин переважають впродовж перших місяців і років після лікування, судинні — виникають пізніше. Ризик виникнення таких порушень залежить від дози опромінення, щоденного фракціонування ПТ у комбінації з ПХТ. Симптоми різні: від незначних порушень інтелекту і головного болю до прогресуючої деменції, судом. Аналогічні процеси можна спостерігати у спинному мозку, радіаційну мієлопатію виявляють при перевищенні звичайних доз опромінення. Цей

синдром характеризується прогресуючими змінами чутливості у нижніх кінцівках, в подальшому — послабленням рухів, дисфункцією товстого кишечника і сечового міхура [260].

За даними дослідження Halberg F. [260] за участю 39 хворих, у яких застосовували передпроменеву ХТ і знижену дозу ПТ на нейроаксис (54 Гр на ЗЧЯ і 25 Гр — на ГМ і спинний мозок), впродовж 5 років жили 68% пацієнтів, рецидивів відсутній у 58% (у хворих, яким призначали лише ПТ в стандартній дозі, ці показники становили відповідно 79 і 78%). Частота виникнення рецидиву при застосуванні ХТ та зниженої дози опромінення — 31%, звичайної дози опромінення — 38%, в обох групах 70% метастазів виявлені в ділянці ЗЧЯ [260].

У французькому протоколі М7 68 хворим призначали інтенсивну передпроменеву ХТ (2 курси «8–1» і 2 курси метотрексату). ПТ — стандартні дози на ЗЧЯ (54 Гр) і спину (36 Гр), зменшена доза — на ГМ (27 Гр, частині пацієнтів призначали до 35 Гр). Крім того, хворим групи підвищеного ризику додатково призначали 4 курси ХТ за схемою «8–1». У 7 пацієнтів виявлені супратенторіальні метастази (у 2 — крім того, спінальні метастази), 2 з них призначали по 30,6 Гр на ГМ; ще у 2 пацієнтів виникнення метастазів пов'язували з високим розташуванням блоків, які прикривали очі. Таким чином, тільки у 3 хворих виникнення супратенторіальних метастазів можна пояснити зменшенням дози опромінення на ГМ [275].

Описані результати лікування 10 хворих, яким призначали зменшену дозу опромінення (26–36 Гр на ЗЧЯ, 18–24 Гр — на ГМ і спинний мозок) на тлі інтенсивної ХТ (ІСЕ-протокол — 8 циклів тривалістю по 4 тиж: ізофосфамід 900 мг/м^2 , цисплатин — 20 мг/м^2 , етопозид — 60 мг/м^2) [276]. Строки спостереження у середньому 2 роки: показник безрецидивного виживання — 70%, загального виживання — 80% (2 хворих померли внаслідок прогресування захворювання). З 1986 по 1990 р. проведені дослідження, в яких порівнювали дві рандомізовані групи хворих з пухлинами (Т1–3а, М0) після їх тотального або субтотального видалення, без

передпроменевої ХТ; пацієнтам однієї групи призначали стандартну дозу опромінення на ГМ і спинний мозок —36 Гр, іншої — зменшену — 24 Гр, доза на ЗЧЯ становила 54 Гр в обох групах. У результаті частота виникнення метастазів збільшилася з 7,9% (у першій групі) до 28,3% (у другій групі). Дослідження припинене достроково [277].

Зниження дози опромінення на ділянку ЗЧЯ спричиняє збільшення частоти виникнення субтенторіальних метастазів. Так, за даними Tarbell N. і співавторів [278], ймовірність метастазування МБ впродовж 5 років при дозі опромінення менше 53 Гр становила у середньому (50±13)%, при дозі 53 Гр і більше — (18±7)%.

За даними літератури, ПТ за радикальною програмою є обов'язковим компонентом лікування дорослих при МБ. Спроби зменшити дозу опромінення, навіть на тлі ХТ, спричиняють збільшення частоти рецидивів і метастазів.

1.3.3. Хіміотерапія

МБ вважають однією з найбільш чутливих до ХТ пухлин ГМ у дітей [279]. Починаючи з 1990-х рр., на основі аналізу рандомізованих клінічних досліджень лікування при МБ з використанням ХТ, показане підвищення показників виживання дітей групи високого ризику порівняно з дітьми групи низького ризику, яким не призначали ХТ [182, 280]. В результаті, ХТ, на додаток до ПТ, стала стандартом лікування дітей при МБ. Основний принцип проведення ХТ у пацієнтів з МБ незалежно від віку — використання ПХТ. Дискутабельним є час початку ПХТ: до чи після ПТ?

Переваги передпроменевої ПХТ:

1) велика кількість хіміопрепаратів ефективні на початку захворювання, натомість, їх використання після інших видів лікування, зокрема, ПТ, не завжди ефективне;

2) побічні ефекти хіміопрепаратів менш виражені до токсичного впливу на організм ПТ, що дозволяє застосовувати більші дози препаратів;

3) під час ПТ змінюється мікроциркуляція, що ускладнює проникнення хіміопрепаратів в залишки пухлини або метастази;

4) такі препарати як метотрексат і цисплатин менш нейротоксичні при їх використанні до застосування ПТ [280].

Однак результати передпроменевої ХТ часто незадовільні. Передпроменева ХТ не сприяє покращенню показників безрецидивного виживання пацієнтів групи високого ризику, у 20–30% хворих захворювання прогресує протягом 3–4 міс передпроменевої ХТ [281, 282]. Досить складно зробити висновок щодо того, чи дійсно відкладання ПТ зумовлює розчарування її результатами або ж досі не відпрацьована схема передпроменевої ХТ.

Більше 15 цитостатиків з сучасного арсеналу здатні долати гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ), накопичуватися у спинно-мозковій рідині в терапевтичній концентрації, зокрема, похідні нітрозосечовини (CCNU, BCNU, ACNU), прокарбазин, гідроксисечовина, дакарбазин, метотрексат, цитозин-арабінозид, блеоміцин, циклофосфамід, ізосфамід, етопозид, теніпозид, тіотепа, дибромодульцитол (елобромол), а також вінка-алкалоїди та препарати платини.

На відміну від дітей, роль ХТ у дорослих з МБ менш вивчена. На основі екстраполяції даних педіатричної літератури, ад'ювантну ХТ можна застосовувати у дорослих групи високого ризику, а також при лікуванні рецидивів. У той же час, немає переконливих доказів на підтримку конкретного режиму ХТ у дорослих. Більшість опублікованих робіт, присвячених ХТ у дорослих при МБ, — це невеликі ретроспективні дослідження, в яких включені хворі різних груп ризику, іноді аналізується період часу більше 30 років, використовуються численні хіміопрепарати або різні режими їх застосування. У табл. 1.3.3.1 наведені результати досліджень, присвячених використанню ад'ювантної ХТ у дорослих при МБ.

Таблиця 1.3.3.1.

Дослідження ефективності ПХТ у дорослих при МБ.

Дослідження	Кількість спостережень	Вік хворих, у середньому (років)	ПХТ	Результати
Ang et al., 2008	5	30	В 1 спостереженні: vincristine +CCNU +prednisone; у 6: cisplatin/etoposide alternating with vincristine/cyclophosphamide; в 1 — vincristine +CCNU; у 4: інші протоколи.	Впродовж 5 років жили 78% пацієнтів, 10 років — 30%. Ад'ювантна ХТ достовірно не покращує показники виживання.
Ertas et al., 2008	29	не вказано	11 спостережень: procarbazine+CCNU+vincristine.	Тривалість життя хворих, яким призначали ХТ, в середньому становила 59,8 міс, без ХТ — 41 міс (p=0,15).
Brandes et al., 2007	36	26	10 пацієнтів групи низького ризику, яким призначали тільки ПТ. 26 пацієнтів групи високого ризику, яким призначали ПТ+ХТ. До 1995 р.: nitrogen mustard+vincristine+prednisone +procarbazine, після 1995 р.: cisplatin+etoposide+cyclophosphamide.	Впродовж 5 років жили 80% пацієнтів групи низького ризику і 73% хворих групи високого ризику.
Padovani et al., 2006	253	29	146 спостережень: гетерогена ад'ювантна ХТ (8 препаратів в 1	Впродовж 5 років жили 71% пацієнтів, яким

			день; потім — carboplatin+etoposide).	призначали ХТ, і 73% хворих без ХТ, протягом 10 років — відповідно 58 і 53%.
Herrlinger et al., 2005	34	24,5	У 8 спостереженнях: vincristine+CCNU+ cisplatin або carboplatin; у 7: тільки methotrexate або methotrexate+ vincristine; у 5: інші протоколи.	Впродовж 5 років жили 84% пацієнтів, яким призначали ХТ, і 75% — без ХТ, протягом 10 років — відповідно 84 і 51% хворих. Медіана виживання (110 міс) не досягнута у пацієнтів, яким призначали ХТ, на відміну від хворих, яким не проводили ХТ (RR=1,89, 95% CI 0,95–4,86; p=0,068).
Abacioglu et al., 2002	30	27	10 пацієнтів групи високого ризику: різні комбінації procarbazine+CCNU+ vincristine.	Впродовж 5 років жили 65% хворих, 8 років — 51%; протягом 5 років рецидив відсутній у 69% пацієнтів, яким призначали ХТ і у 60% пацієнтів, яким ХТ не призначали.
Greenberg et al., 2001	17	23	У 10 хворих: щотижня vincristine, cisplatin+CCNU+vincristine (Packer протокол); у 7: cisplatin/etoposide або	Тривалість життя пацієнтів, яких лікували за протоколом Parker, у середньому 26 міс, за протоколом

			vincristine/ cyclophosphamide (POG протокол).	POG — 57 міс ($p=0,058$). Токсичність при лікуванні за протоколом Packer — помірна.
Kunschner et al., 2001	28	30,5	В 1 хворого: thioguanine +procarbazine+dibromo dulcitol+CCNU+vincris tine; у 4 cyclophosphamide +etoposide + cisplatin; в 1: methotrexate + nitrogen mustard + vincristine + prednisone + procarbazine.	Показники виживання пацієнтів, яким призначали ХТ, та без такої, достовірно не відрізнялися.
Chan et al., 2000	32	25,5	У 16хворих: cisplatin + vincristine; у 4: cisplatin + vincristine + cyclophosphamide + etoposide; в 1: cisplatin + vincristine + cyclophosphamide; в 1: cisplatin + vincristine + etoposide; в 1: vincristine + CCNU.	Впродовж 5 років жили 83% хворих, 8 років — 45%. Пацієнти, яким призначали ХТ, віднесені до М- стадії, на відміну від тих хворих, яким проводили тільки ПТ.
Le et al., 1997	34	23	У 12 хворих: procarbazine + hydroxyurea; у 5: cisplatin + CCNU + vincristine; у 2: CCNU + vincristine + procarbazine + hydroxyurea; у 2: thioguanine + procarbazine + dibromodulcitol + CCNU + vincristine; в	Впродовж 5 років жили 58% хворих. Застосування ХТ не впливає на виживання хворих та продовжений ріст МБ у ЗЧЯ.

			1: CCNU + hydroxyurea; в 1: cytarabine.	
Prados et al., 1995	47	28	11 пацієнтів групи низького ризику: procarbazine + hydroxyurea (+ CCNU в 1 хворого). У 21 пацієнта групи високого ризику: комбінація nitrosourea-based.	Впродовж 5 років жили 81% пацієнтів групи низького ризику і 54% — групи високого ризику (p=0,03). Ад'ювантна ХТ сприяє покращенню показників виживання (p=0,03). Відсутність ад'ювантної ХТ пов'язана з швидким прогресуванням захворювання (p=0,05).
Carrie et al., 1994	156	28	У 31 хворого: vincristine + BCNU + procarbazine + hydroxyurea + cisplatin + cytarabine + methotrexate; у 29: vincristine + CCNU або BCNU; у 9: ifosfamide + cisplatin + vincristine; у 6: інші протоколи.	Впродовж 5 років жили 66% пацієнтів, яким призначали ХТ, і 57% у— без ХТ, протягом 10 років — відповідно 52 і 43%. Результати використання різних протоколів ХТ достовірно не відрізнялися. ХТ набагато більш токсична у дорослих, ніж у дітей.

Серед спеціалістів немає єдиної думки щодо необхідності застосування ХТ у лікуванні дорослих при МБ: одні фахівці вважають, що ХТ необхідна всім пацієнтам, інші — що вона показана лише певному контингенту хворих, також існує думка, що ХТ не сприяє покращенню результатів лікування та набагато більш токсична у дорослих, ніж у дітей..

За даними проспективних і ретроспективних досліджень, ПХТ доцільно застосовувати у лікуванні дорослих при МБ групи високого ризику, а також при рецидивах захворювання. виникненні метастазів. Єдиної думки щодо оптимального протоколу ПХТ у дорослих немає.

Таким чином, лікування дорослих при МБ має бути комплексним, поєднувати хірургічні методи, ПТ і, можливо, ХТ.

1.3.4. Особливості лікувального патоморфозу медулобластом після ад'ювантної терапії

Лікувальний патоморфоз — характеристика ступеня пошкодження пухлини під дією різних видів антибластичної терапії, спрямованої на зменшення її біологічної активності та розмірів і підвищення резектабельності [282, 283]. Оцінка ознак лікувального патоморфозу, виявлених в тканині злоякісних пухлин, визначають клінічну ефективність передопераційної антибластичної терапії, дозволяють оптимізувати тактику подальшого лікування хворих [293]. Лікувальний патоморфоз злоякісних пухлин — це комплекс індукованих антибластичним лікуванням деструктивних порушень у їх тканині на ранній (десмолітичній) і пізній (віддалених наслідків) стадіях. На пізній стадії спостерігають компенсаторно-приспосувальні реакції з боку стромы пухлини і навколишніх тканин. Лікувальному патоморфозу в пухлинах різного гістогенезу присвячені численні дослідження, оскільки цитодеструктивні зміни, індуковані ПТ і ХТ, розглядають як інформативний показник ефективності та

повноти лікувального впливу [284–289]. Ознаки лікувального патоморфозу в тканині пухлин ГМ виявляють під час порівняльного гістологічного дослідження матеріалу першого та повторного хірургічного втручання, тобто до і після протипухлинної терапії, в одного й того самого хворого — це дозволяє оцінити індивідуальну чутливість пухлини до антибластичної терапії.

МБ мозочка найбільш чутливі до ПТ, яка є обов'язковим компонентом протоколу комбінованого лікування. Однак, на відміну від гліом ГМ, особливостям променевого патоморфозу у МБ присвячені лише окремі дослідження, в яких включали невелику кількість хворих, в основному, дітей. Так, за даними Хомінського Б.С. [13], після ПТ і ХТ в тканині МБ у дітей з'являються пошкоджені клітини з каріопікнозом і каріорексисом, крім того спостерігають клітинний поліморфізм: одно- і багатоядерні гігантські клітини (так звані «променеві гіганти»). Також у деяких МБ автор відзначав зниження мітотичної активності, виникнення вогнищ некрозу.

Бродський Ю.С. і співавтори [16] оцінювали ефективність мегавольтної терапії в комплексному лікуванні 87 дітей при МБ: в тканині опромінених пухлин виявляли «лікувальні гіганти», вогнища некрозу, кальцинозу, гіаліноз стінок судин, масивні розростання сполучної тканини, а також великі безклітинні ділянки. На думку авторів, такі зміни у МБ дітей після ПТ сприяють сповільненню продовженого росту залишків пухлини, збільшенню тривалості життя хворих. Автори підкреслюють, що характер і вираженість індукованих деструктивних змін у тканині МБ залежали від дози опромінення.

За спостереженнями Бадмаєва К.Н., Смірнова Р.В. [284], після ПТ у МБ виникають регресивні зміни, зокрема, каріолізіс і каріорекс, патологічні мітози, що спричиняє масову загибель клітин пухлини, атрофію та замісний склероз. Цікавими виявилися гістоструктурні зміни у МБ, повторно оперованих пацієнтів, яким після першої операції призначали комплексне антибластичне лікування — ХТ (вінкристин + циклофосфан, карбоплатин +

везид) у поєднанні з ПТ [16, 288]. В процесі лікування у цих МБ відзначали гліальну трансформацію, тобто клітини залишків пухлини нагадували клітини високодиференційованої астроцитомі. На нашу думку, цей феномен узгоджується з добре відомим фактом більшої хіміорезистентності диференційованих клітинних популяцій порівняно з такою анапластичних. При оцінці ефективності ПТ за ознаками лікувального патоморфозу основну увагу дослідники приділяли вивченню МБ у дітей. Давно відзначена висока чутливість МБ у дітей до ПТ [16, 284, 287].

Щодо вивчення особливостей лікувального патоморфозу після ПТ у МБ дорослих, великих клінічних досліджень не проводилося, що зумовлене відносно невеликою частотою захворювання, браком інформації про гістобіологічні особливості цих пухлин у дорослих пацієнтів [268–271]. Виявлені нами публікації щодо МБ у дорослих, включають ретроспективні дослідження, матеріал збирався переважно за тривалий період часу, використовувалися різні режими ПТ, отримані результати складно проаналізувати через різні терапевтичні підходи.

Незважаючи на певні досягнення у діагностиці та комбінованому лікуванні хворих на МБ, багато питань щодо їх біології, причин і механізмів виникнення недостатньо вивчені, що й спонукало нас до проведення цього дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційне дослідження ґрунтується на результатах комплексного обстеження та лікування 197 дорослих хворих з первинними медулобластомами мозочку та 42 випадків продовженого росту пухлини у цих хворих, які перебували на лікуванні у відділенні субтенторіальної нейроонкології ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» в період з 1988 до 2013 рр. Співвідношення чоловіків і жінок склало 60,9% (n=120) і 39,1% (n=77) відповідно. Середній вік хворих склав $29,1 \pm 0,78$ років (від 16 до 65 років). Пацієнти розподілялись за віком згідно існуючим класифікаціям на момент госпіталізації. Найбільша частота захворюваності на МБ спостерігається у дорослих пацієнтів у віці від 17 до 35 років з поступовим зниженням частоти захворюваності відповідно до збільшенню віку пацієнтів. Виявлено два вікових піки частоти захворюваності — 20–25 та 30–35 років. У досліджуваній групі пацієнтів було 6 хворих (3%) віком 55–65 років.

В основній групі спостережень історії хвороби було детально вивчено. Гістологічний біопсійний матеріал досліджено із застосуванням різних методів (загалом понад 792 спостережень). Як групи порівняння досліджено 157 зразків медулобластом хворих дитячого віку та інших пухлин головного мозку різної гістологічної структури.

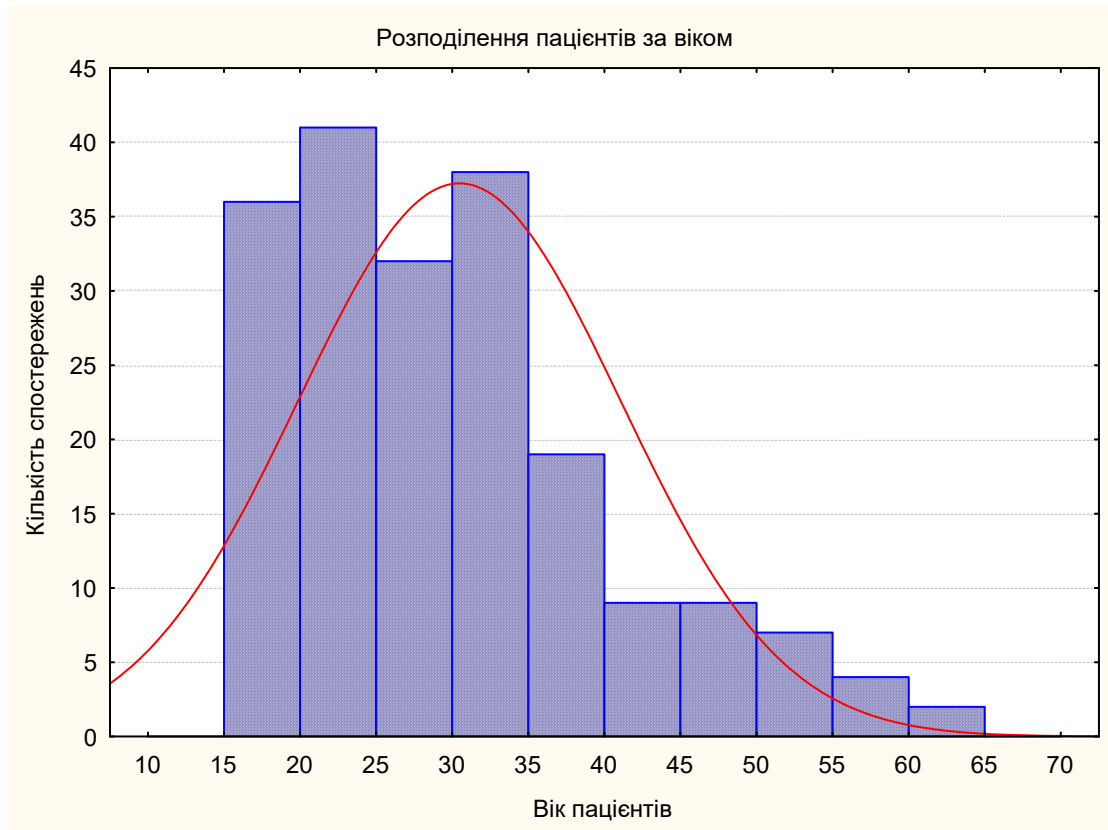


Рис. 2.1. Розподіл хворих за віком.

Крім основної групи хворих при МБ, відповідно до завдань дослідження, вивчали вміст СПК і персистенцію вірусів у 42 хворих (віком 19–51 років) з іншими пухлинами, яких оперували в Інституті в період з 1998 по 2013 рр. Деякі з цих пацієнтів оперовані повторно з приводу продовженого росту пухлини. Тканину пухлин цих пацієнтів зберігали у парафінових блоках. Для зіставлення результатів дослідження необхідним було проведення допоміжних досліджень у пацієнтів груп порівняння. СПК за допомогою CD-133⁺ антитіл вивчали у 20 дітей (віком від 3 до 14 років) з медулобластомами, а також у тканині 21 злоякісної гліоми (гліобластоми і астроцитоми III стадії анаплазії) у дорослих хворих. Хворі контрольної групи і групи порівняння оперовані у період з 2011 по 2014 рр., тканину пухлини зберігали у парафінованих блоках.

Біологічні особливості експресії молекулярних прогностичних маркерів (так званих молекулярних предикторів), зокрема, нейрональної молекули адгезії, Fas-рецептора апоптозу (CD-95), активаційного рецептора ІЛ-2 (CD-

25) та інших вивчали на зразках 37 МБ і 12 ГБ (група порівняння). Для дослідження брали тканину пухлин, видалених не більше 3 год тому, обов'язковою умовою було збереження життєздатні їх клітин. Зразки «свіжих» пухлин отримані у пацієнтів, оперованих в Інституті в період з 2008 по 2011 рр.

Для визначення вірусної персистенції у пухлинах ми дослідили зразки медулобластом 42 дорослих і 15 дітей, які зберігалися у парафінових блоках.

Для більш детального аналізу та зіставлення результатів вірусологічного дослідження медулобластом як допоміжний контроль використовували ПЛР у зразках 87 внутрішньо- і позамозкових пухлин у хворих, оперованих в Інституті у 2011–2014 рр. Зразки цих пухлин забирали під час операції, що виключало вірусне забруднення зразків при подальшій їх фіксації та забарвленні. Ці дослідження дозволяли виключати вплив формаліну та обробки спиртом на наявність вірусів у медулобластом, які зберігали у парафінових блоках.

Для з'ясування причин і механізмів персистенції вірусів та їх можливої активізації у пухлинному вогнищі досліджено сироватку крові нейроонкологічних хворих (група порівняння №2), яких лікували в Інституті. Вивчали експресію Ki-67 антигену в клітинах МБ у 16 дорослих і 10 дітей. Структурно-біологічні особливості МБ після ПТ вивчали на матеріалі, отриманому під час першого та повторного втручання у 24 хворих (40 зразків). При вивченні МБ використовували морфометрію (90 зразків) і електронну мікроскопію (30 зразків).

Детальні дані щодо хворих і виконаних досліджень, наведені у табл. 2.1.

Таблиця. 2.1.

Групи хворих, а також дослідження, проведені в ході виконання роботи

Групи хворих, розподіл матеріалу дослідження	Кількість пацієнтів або зразків
Основна група	
1. Дорослі з МБ, оперовані в Інституті у період з 1988 по 2013 рр. (архівний матеріал)	197
2. Дорослі і діти з МБ, тканину яких досліджували одразу після хірургічного втручання на вміст маркерів адгезії та активації	37
3. МБ дорослих у парафінових блоках, в яких вивчали кількість СПК і вірусну контамінацію	42
4. Гістологічні препарати МБ дорослих	197
5. МБ дорослих до і після ПТ (після першої та повторної операції)	40
6. МБ дорослих і дітей, у яких досліджували експресію маркера проліферації (молекула Ki-67)	26
7. Ультратонкі зрізи МБ дорослих і дітей	90
8. Електронна мікроскопія тканини МБ дорослих і дітей	30
Разом	659
Групи порівняння	
1. Тканина різних внутрішньо- і позамозкових пухлин, взята під час операції	87
2. МБ у дітей у парафінових блоках	20
3. Злоякісні гліоми у парафінових блоках	21
4. ПНЕП у парафінових блоках	5
5. Сироватка крові хворих при пухлинах ГМ	50
Разом	133
Загалом	792

2.1. Загальна клінічна та діагностична характеристика власних спостережень

Найчастіше МБ діагностують в осіб віком від 17 до 35 років, у міру збільшення віку хворого, частота виявлення захворювання зменшується. Пік виявлення МБ припадає на вік 20–25 і 30–35 років. У нашому дослідженні було лише 6 (3,04%) хворих віком 55–65 років. Вікові особливості виявлення МБ у нашому дослідженні відповідають таким інших авторів, зокрема, МБ (їх вважають ембріональними пухлинами) рідко діагностують в осіб похилого віку [6].

У нашому дослідженні пацієнтів розподілили на дві вікові групи (умовно): 1) молоді (до 30 років) — 62% чоловіків і 38% жінок і 2) дорослі (30 років і старше) — 59,5% чоловіків і 40,5% жінок.

Під час ретроспективного аналізу гістологічних препаратів медулобластом використовували класифікацію пухлин ВООЗ (2007). Класичні МБ виявлені у 123 (62,3%) спостереженнях, десмопластичні — у 47 (23,8%), анапластичні — у 27 (13,9%), МБ з підвищеною вузлуватістю у нашому дослідженні не виявляли. Ознаки диференціювання виявлені у 59 (30%) досліджених МБ. У 17 (8,5%) спостереженнях виявлені МБ з епендимарним диференціюванням, у 15 (7,5%) — з нейрональним, у 27 (13,5%) — з гліальним. У 6 (3%) спостереженнях відзначали рідкісні форми МБ: у 3 — меланотичну, у 2 — медулоліпобластому, в 1 — медуломіобластому.

Показники якості життя (функціональний стан хворих) оцінювали за шкалою Карновського (ШК) в динаміці: до операції, у ранній та віддалений післяопераційний період. При госпіталізації стан пацієнтів у 40% випадків оцінено понад 80 балами, у 38,6% — 80–70 балами, у 21,2% — менше ніж 70 балами.

Усі хворі пройшли комплексне клініко-неврологічне обстеження (дослідження неврологічного статусу та його динаміки, огляд терапевта, офтальмолога, отоневролога, аудіограму, комп'ютерну стабілографію).

2.1.1 Клінічні прояви і динаміка розвитку захворювання у хворих на МБ мозочку.

Основними симптомами у пацієнтів були статокоординаторні порушення — 76,6% пацієнтів, головний біль — 91,3%, спонтанний горизонтальний ністагм — 100%. Порушення функції черепних нервів виявлено у 13 пацієнтів: у 1 — парез лицьового нерва (I–II ступінь за House–Brackmann, 1985 р.), у 3 — зниження слуху внаслідок ураження стовбура (III–IV ст. за класифікацією Gardner–Robertson, 1988 р.), у 7 — ураження відповідного нерва, у 1 — порушення функції каудальної групи черепних нервів (табл.2.1.1).

Таблиця 2.1.1

Клінічні прояви при медулобластомах у дорослих

Симптом	Кількість спостережень	
	абс.	%
Загально мозкова симптоматика		
головний біль	180	91,3
блювота	79	40
Вогнищева симптоматика		
порушення координації у верхніх кінцівках на боці ураження	101	51,2
стато-координаторні порушення	149	75,5
спонтанний горизонтальний ністагм	197	100
двоїння в очах	7	3,5
бульбарні розлади	1	0,5
асиметрія обличчя	1	0,5
зниження слуху	3	1,5

Внутрішньочерепну гіпертензію з застійними дисками зорових нервів спостерігали у 84 (43%) пацієнтів, при цьому у 31% з них — зниження гостроти зору.

Порушення зору у хворих при медулобластомах представлені на рис. 2.1.1.

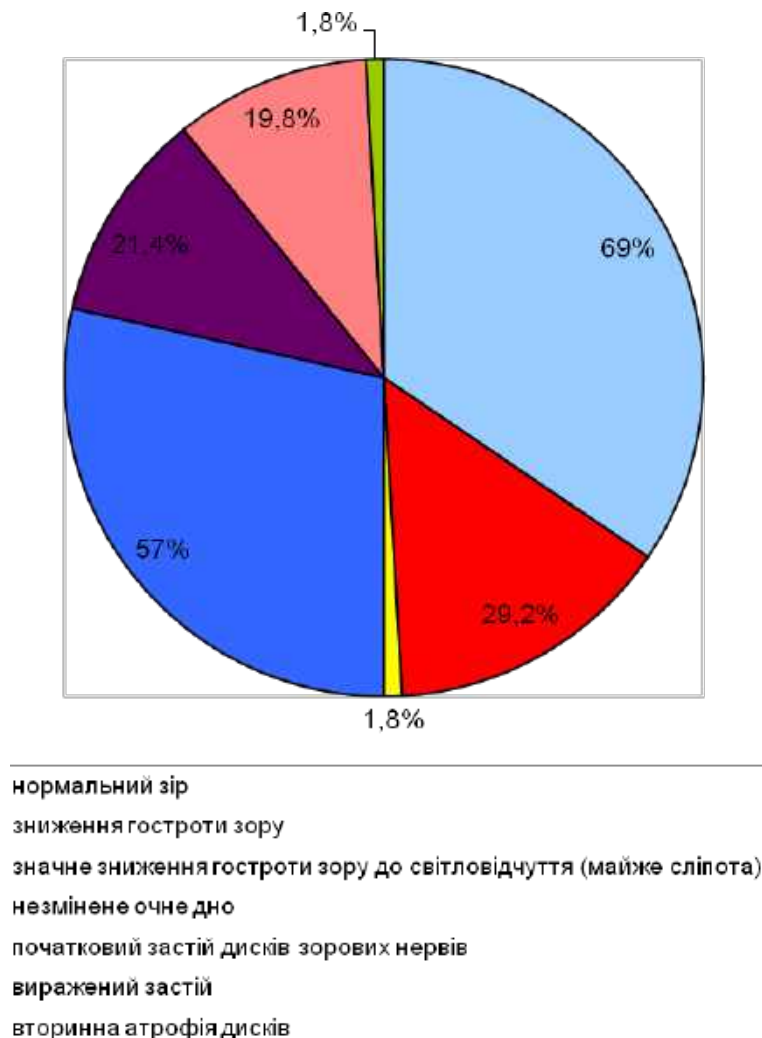


Рис. 2.1.1. Порушення зору у хворих при МБ.

Середня тривалість клінічних проявів пухлинного процесу до госпіталізації становила $(6,30 \pm 0,98)$ міс (від 1 до 36 міс), але більшість хворих звертались по медичну допомогу у терміни до 3 міс від початку захворювання (рис. 2.1.2).

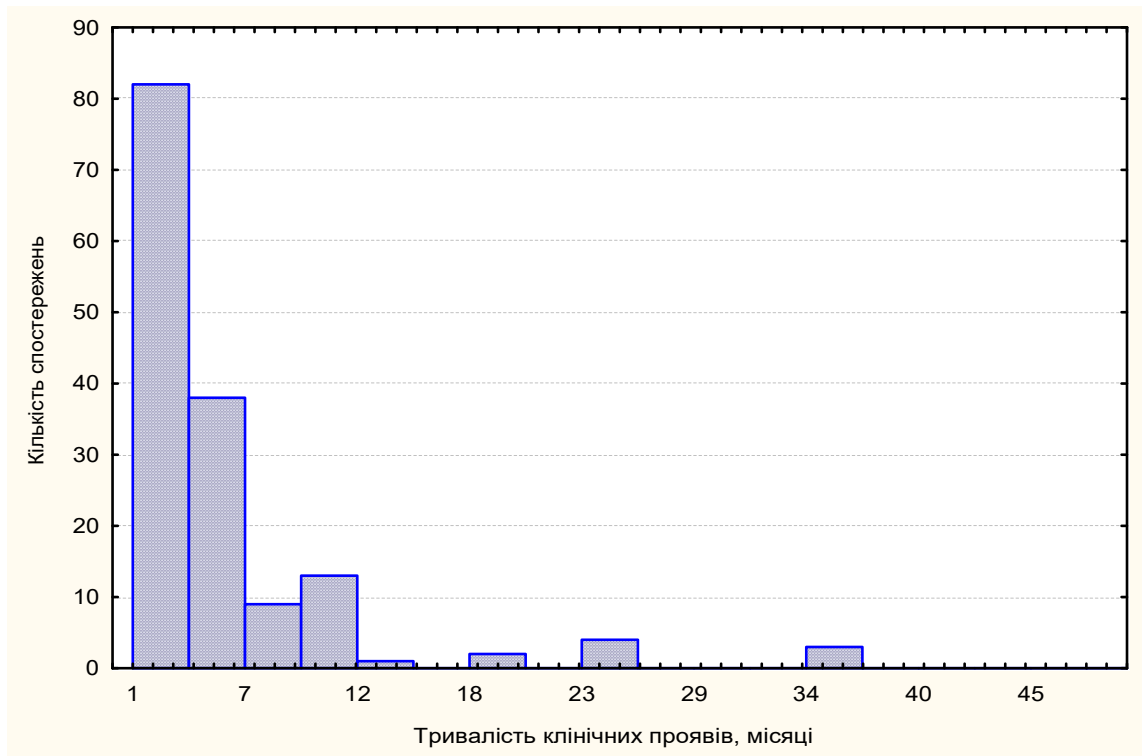


Рис. 2.1.2. Строки від виникнення клінічних проявів до госпіталізації до нейрохірургічного стаціонару хворих при МБ.

При аналізі особливостей клінічної картини захворювання у хворих з пухлинами, розташованими по середній лінії ЗЧЯ, в IV шлуночку і в латеральних відділах ЗЧЯ з розповсюдженням в мостомозочковий кут (ММК), виявляються деякі загальні, а також специфічні клінічні ознаки захворювання.

Так, у 87 хворих з МБ, розташованими в латеральних відділах ЗЧЯ (гемісфера мозочку, ММК, бокова поверхня моста) середній вік яких склав 34,2 року, середня тривалість захворювання склала близько 9,3 місяці. У 92% (80) хворих найпершим симптомом були стато-координаторні розлади. У цієї групи хворих переважали статичні порушення у вигляді хиткості при ходьбі з деякими розладами координації на боці вогнища. У деяких пацієнтів захворювання починалося з слухових розладів - 3,4%(3). Хворі відзначали зниження слуху на стороні ураження, іноді цьому передувало шум у цьому

вусі. Також слід зазначити як перший симптом захворювання, заніміння обличчя в області іннервації трійчастого нерва. Так, у 2 пацієнтів протягом більше 6 місяців років відзначалися явища гіпестезії на половині обличчя при відсутності будь-якої іншої неврологічної симптоматики. Також у 88,5% (77) хворих захворювання почалося з головного болю помірної інтенсивності без чіткої локалізації. Вкрай рідко, у 1 хворого захворювання проявилось порушення ковтання. У міру зростання пухлини приєднуються інші симптоми ураження ММК. Найбільш часто хворі відзначали двоїння перед очима 8% (7), а також прогресування стато-координаторних розладів. В подальшому у хворих приєднується та гіпертензійна симптоматика. У 26% (23) хворих в останні 2 місяці захворювання з'явилися ознаки гіпертензійного синдрому у вигляді головного болю, блювоти на її висоті, погіршення зору.

Таким чином, при МБ з латеральним розташуванням в ЗЧЯ найбільш раннім і частим симптомом є статичні та координаторні порушення .

Деяко інша динаміка розвитку захворювання характерна для МБ в проекції хробака мозочка та IV шлуночка (110 пацієнтів). Середній вік хворих склав 27,6 років. Перебіг захворювання більш швидкий, ніж при МБ з латеральним розташуванням. Так, середня тривалість захворювання склала близько 3 місяців. Найбільш часто захворювання починалося з головного болю, на який скаржились 92,7% (102) пацієнтів, Другим за частотою симптомом, яким може проявлятися початок захворювання, є статичні та координаторні порушення, що відзначаються в дебюті захворювання у 63% (70) хворих. Вкрай рідко, не більше ніж в 6,3% (7) спостережень, захворювання починалося з двоїння перед очима. Але основними симптомами при розташуванні МБ проекції хробака мозочка та IV шлуночка були симптоми порушення ліквородинаміки. Приєднання гіпертензійної симптоматики було швидким та виходила на перший план в клінічній картині

захворювання. у 54,5% (60) хворих головний біль набувала гіпертензійний характер, супроводжувалася нудотою, блювотою на її висоті, а також у 41% (45) хворих відзначалося зниження зору.

Слід зазначити, що найбільш характерними є такі скарги: для МБ ММК - розлади координації та статички, порушення функції черепних нервів ММК; для МБ IV шлуночка головний біль, статокординаторні порушення, двоїння, зниження зору.

Дослідження неврологічного статусу у хворих МБ у латеральних відділах ЗЧЯ показує дисфункцію різних черепних нервів, ознаки менінгеального і гіпертензійного синдрому (таблиця 2.1.3).

Таблиця 2.1.3

Частота менінгіальної та гіпертензійної симптоматики у хворих з МБ у латеральних відділах ЗЧЯ (n=87).

Клінічні симптоми	Кількість спостережень, % (абс.)
Менінгіальні симптоми	
ригідність потиличних м'язів	3,4% (3)
симптом Керніга	3,4% (3)
усі	3,4% (3)
Всього	10,3% (9)
Очне дно	
Початковий застій	7,8% (7)
Помірно виразний застій	2,2% (2)
виразний застій	16% (14)
Всього	26,1% (23)
Зниження зору	16% (14)

Менінгіальні симптоми були виявлені у 10,3% спостережень. З них ригідність потиличних м'язів визначалась у 3,4%, симптом Керніга також у 3,4%. у такому ж відсотку були виявлені всі позитивні менінгіальні симптоми.

Ознаки ураження черепних нервів відмічались досить рідко (таблиця 2.1.4). Серед окорухових порушень звертає на себе увагу ураження відвідного нерва на стороні вогнища, яке спостерігалось у 8,0% (7) хворих. Ураження окорухового нерва на стороні вогнища не було відмічено. Найбільш часто відмічалось ураження VIII пари черепних нервів на стороні пухлини в 3,4% (3), що проявлялося у вигляді зниження слуху III–IV ст. за класифікацією Gardner–Robertson, 1988 р. Дисфункція лицьового нерва спостерігалась по типу легкого або помірного периферичного парезу I–II ступінь за House–Brackmann, 1985 р. При дисфункції трійчастого нерву характерна наявність гіпестезії на половині обличчя. Рухова порція трійчастого нерва не була зацікавлена в жодному спостереженні. Тільки у одного хворого спостерігалось ураження IX–X пари черепних нервів у вигляді парезу м'якого піднебіння, дисфагії. Ознаки ураження XI–XII нерва не були відмічені в жодного хворого.

Ознаки мозочкового геміпарезу у вигляді зниження сили і тонусу на стороні ураження виявлялися у 23% (20) хворих. Проба Барре була позитивна на стороні ураження у 23% (20), порушення чутливості на боці ураження у вигляді гіпестезії на половині тіла у 5,7% (5), на протилежній стороні не відзначалися. Підвищення сухожильних рефлексів у вигляді їх підвищення спостерігалися на стороні вогнища у 5,7% (5), на протилежній у 9,2% (8). Патологічні рефлекси не були виявлені в жодному спостереженні.

Таблиця 2.1.4

Частота дисфункції черепних нервів та неврологічних розладів у хворих з МБ у латеральних відділах ЗЧЯ (n=87) .

Клінічні симптоми	Кількість спостережень, % (абс.)
ДИСФУНКЦІЯ ЧЕРЕПНИХ НЕРВІВ	
ІІІ пара	-
VI пара	8,0% (7)
V пара	2,2% (2)
VII пара	1,1% (1)
VIII пара	3,4% (3)
IX-X пара	1,1
XI пара	-
XII пара	-
Проба Барре	
на стороні ураження	23% (20)
на протилежній	-
Спонтанний горизонтальний ністагм	100% (87)
Розлади координації	92% (80)
Розлади статики	86% (75)

Стато-координаторні порушення були виявлені у 92% (80) хворих. Були виявлені грубі розлади як статики, так і координації. Хиткість в позі

Ромберга визначалася у 86% (75) хворих. Тремор при пальценосовій пробі на стороні вогнища визначалося в 71,2% (62) спостережень і на протилежній у 23% (20) хворих.

Ністагм відзначався у хворих з 2 сторін. Виявлявся як дрібнорозмашистий, так і грубий великорозмашистий. Спонтанний горизонтальний ністагм був виявлений у 100%, в поєднанні з вертикальним у 23% (20).

Розвиток гіпертензійного синдрому призводив до появи застою на очному дні і зниженню зору. Застій на очному дні відзначався у 26,1% (23), початковий застій був виявлений у 7,8% (7) хворих, помірно виразний у 2,2% (2) хворих і виразний застій відмічено у 16% (14) хворих. На тлі вираженого застою на очному дні зниження зору спостерігалось у 16% (14) хворих.

Таким чином, на підставі проведеного аналізу можна виділити найбільш часто зустрічаються симптоми у хворих з МБ в латеральних відділах ЗЧЯ, якими є:

- Статокоординаторні розлади з вираженими порушеннями як статички, так і координації рухів;
- Спонтанний горизонтальний ністагм з 2 сторін;
- Гіпертензійна симптоматика;
- Зорові порушення

Інші неврологічні симптоми захворювання зустрічаються рідше, менше 10% спостережень.

При вивченні особливостей клінічної симптоматики у хворих з МБ, розташованими по середній лінії ЗЧЯ та в IV шлуночку (n=110) виявлена дещо інша картина. Менінгіальні знаки були виявлені у більш, ніж у 1/3 хворих. Позитивні симптоми Керніга були у 12,7% (14) хворих, ригідність м'язів потилиці визначалася у 6,3% (7) хворих, повний менінгеальний

симптомокомплекс відзначався у 19,1% (21) хворих. Порушення ліквороциркуляції, що викликається пухлиною, майже в половині спостережень призводило до розвитку гіпертензійного синдрому. Так, застій на очному дні відзначався у 49% (54) хворих (початковий застій у 12% (13), помірно виражений - у 25% (28), а виражений застій з явищами вторинної атрофії у 12%(13) хворих. Вкрай швидкий розвиток захворювання з раннім порушенням лікворовідтоку, несвоєчасне звернення і діагностика призводили до того, що у 25,4% (28) хворих при надходженні вже відзначалося значне зниження зору (таблиця 2.1.5).

Таблиця 2.1.5

Частота менінгіальної та гіпертензійної симптоматики у хворих з МБ середньої лінії ЗЧЯ та ІV шлуночку (n=110).

Симптоматика при МБ ІV желудочка	Кількість спостережень, в % (абс.)
Менінгіальні симптоми	
ригідність потиличних м'язів	6,3% (7)
симптом Керніга	12,7% (14)
усі	19,1% (21)
Всього	38,1% (42)
Очне дно	
Початковий застій	12% (13)
Помірно виразний застій	12% (13)
виразний застій	25% (28)
Всього	49% (54)
Зниження зору	25,4% (28)

Цікавою особливістю клінічної картини у цієї групи хворих є високий відсоток ураження черепно-мозкових нервів, хоча пухлина безпосереднього контакту з ними не мала. Симптоми ураження черепних нервів, на наш погляд, обумовлені компресією і подразненням чи пророщенням пухлиною стовбурових відділів мозку. Найбільш часто страждав відвідний нерв в 12,7% (14) спостережень. Ураження відвідного нерва було, як однобічним 9% (10), дещо рідше двобічним 3,7% (4). Хворі при цьому відзначали двоїння перед очима при погляді в крайні відведення. Крім того, у одного хворого було виявлено порушення функції як відвідного, так і лицьового нерва. У кожного третього хворого було виявлено відставання однієї руки при пробі Барре (таблиця 2.1.6)

Таблиця 2.1.6

Частота неврологічних розладів у хворих з МБ середньої лінії ЗЧЯ та ІV шлуночку (n=110).

Клінічні симптоми	Кількість спостережень, %
Проба Барре	31,5% (34)
Спонтанний горизонтальний ністагм	100% (110)
Спонтанний вертикальний ністагм	72% (79)
Розлади координації	81% (89)
Розлади статики	100% (110)

Зниження м'язової сили було у 6,3% (7) хворих і зниження тонусу у 18,1% (20) з одного боку. Зазначені порушення характерні для мозочкового геміпарезу.

Проводникові порушення у вигляді гіпестезії на половині тіла та підвищення сухожильних рефлексів з цього ж боку були виявлені у 18,1% (20) хворих.

Стато-координаторні порушення були виявлені у всіх спостереженнях. Розлади статики при пробі Ромберга виявлені в 100% випадків, інтенційний тремор і тремор при пальценосовій пробі відзначалися у 81% (89) хворих. Розлади координації були двосторонніми без чіткого переважання будь-якої сторони.

Таким чином, найбільш частими клінічними симптомами МБ середньої лінії ЗЧЯ та IV шлуночка є:

- Гіпертензійний синдром з застійними змінами на очному дні;
- Стато-координаторні порушення з переважанням розладів статики;
- Спонтанний горизонтальний і вертикальний ністагм;
- Порушення функції відвідного нерва;
- Менінгіальні симптоми.

Таким чином, підсумовуючи даний розділ досліджень можна відзначити, що для МБ задньої черепної ямки є як загально мозкова симптоматика, так і специфічні неврологічні порушення, які визначаються локалізацією пухлини, її розміром і напрямом поширення. До загальних порушень для даної патології можна віднести менінгіальний і гіпертензійний синдроми, стато-координаторні порушення. Більш характерно для латерально розташованих МБ порушення статики та координації, гіпертензійний синдром, дисфункція

окремих черепних нервів. Навпаки, для МБ середньої лінії та IV шлуночка більш характерний швидкий розвиток гіпертензійного синдрому, який поряд з вираженими стато-координаторними розладами є основним в клінічній картині. Потрібно відзначити ще одну особливість МБ середньої лінії ЗЧЯ, а саме досить часте порушення функції відвідного нерва. Дисфункція цього нерву може бути викликана як компресією пухлиною стовбурових відділів мозку, так і виразними явищами гіпертензійно-гідроцефального синдрому. При локалізації пухлини в IV шлуночку можна виділити два варіанти її розташування: з краніоспінальним поширенням і без нього. Краніоспінальне поширення відзначено в 10% (11) спостережень. Розмір пухлини становив близько 4,5-5 см практично у цих спостереженнях. У випадках краніоспінального поширення клінічна картина мала деякі особливості. При варіанті з краніоспінальним поширенням менінгіальні знаки були позитивні в 80% спостережень, причому позитивні все менінгеальні знаки були у 60%, тільки симптоми Керніга у 20%. При відсутності краніоспінального поширення тільки у 38% були позитивні менінгеальні знаки. Особливостей порушення функцій черепних нервів при краніоспінальному поширенні не було відзначено. Порушення функції відвідного та лицьового нервів відзначалися лише при локалізації пухлини тільки в порожнині IV шлуночку. Разом з тим у 3 з 11 випадків поширення пухлини у спінальний канал відмічались ознаки зацікавленості чутливих корінців С1 у вигляді болі у шийно-потиличній ділянці та гіпестезії цієї області.

Таким чином, на підставі вивчення особливостей клінічних проявів МБ ЗЧЯ можна досить обґрунтовано припустити не тільки наявності об'ємного процесу в області задньої черепної ямки, а й про його топографо-анатомічні особливості. Однак для уточненої діагностики цих новоутворень необхідне

проведення комплексу спеціальних досліджень, що доповнюють дані клінічного обстеження.

2.1.2 Дані нейровізуалізуючих методів обстеження при МБ мозочку у дорослих.

Ефективність лікування хворих з пухлинами головного мозку, в тому числі і МБ, визначається біологічними властивостями пухлинного процесу, локалізацією його, своєчасністю застосування найбільш раціонального методу лікування.

Дослідження анатомо-топографічних особливостей локалізації пухлини дуже важливо. Знання анатомо-топографічних особливостей має значення не тільки для визначення показів до операції, прогнозування її результатів, але має велике значення і для планування оперативного втручання і попередження ускладнень, які можуть виникати під час операції і післяопераційному періоді.

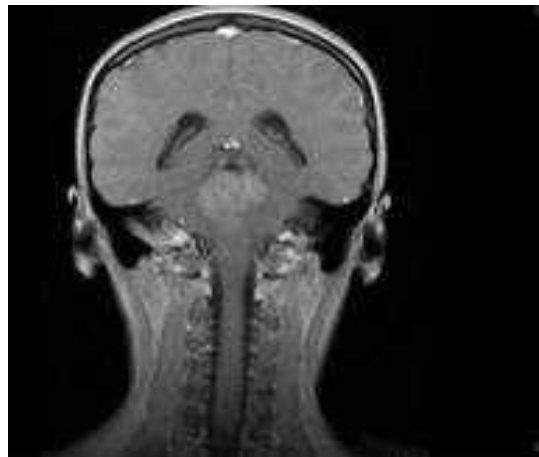
Вивчення клінічної картини захворювання дозволяє тільки припустити наявність об'ємного процесу ЗЧЯ. Тому для уточнення діагнозу хворим проводився цілий комплекс додаткових рентгенологічних і електрофізіологічних досліджень. Такі методи як краніографія, пневмоенцефалографія, ЕЕГ, ЕхоЕГ, ангіографія, сцинтиграфія використовувалися рідко через їхню малу інформативності при даній патології або їх недостатню безпеку.

Основним методом інструментальної діагностики медулобластом у дорослих до 1993 р. була комп'ютерна томографія. Аксіальну комп'ютерну томографію (АКТ) виконували на апараті “Somatom СК” (Siemens, Німеччина), мультіспіральну комп'ютерну томографію (МСКТ) — на спіральному комп'ютерному томографі “Philips Brilliant” (Philips, Нідерланди). Цей метод використано у 93 пацієнтів. При АКТ та МСКТ

медулобластоми визначаються як об'ємні утворення округлої форми, які неоднорідно накопичують контрастну речовину. Середній діаметр пухлини становив — $(3,9 \pm 0,64)$ см.

МРТ виконували, починаючи з 1993 р., за допомогою апаратів «Образ-1» (НПФ «АЗ» Росія), "Magnetom Concerto" (Siemens, Німеччина) з напругою магнітного поля 0,2 Тл і "Philips Integra" (Нідерланди) з напругою магнітного поля 1,5 Тл. Нейровізуалізуючі доопераційні методи діагностики застосовували з обов'язковим контрастним підсиленням, з товщиною зрізів: МРТ — 1 мм, КТ — 1,25–2,5 мм.

МРТ в сагітальній, аксіальній і фронтальній проекціях у T1- і T2-зваженому режимі проведена 115 (64,25%) хворим; товщина зрізів 1–2 мм, крок — 2 мм. За даними МРТ для МБ характерний гетерогенний сигнал, гіпоінтенсивний у T1 режимі і гіпо- або гіперінтенсивний у T2-режимі; у T2 режимі солідний компонент пухлини дає «проміжний» сигнал між сірою і білою речовиною ГМ, у FLAIR-режимі сигнал ізоінтенсивний до сірої речовини ГМ (рис. 2.1.2.1).



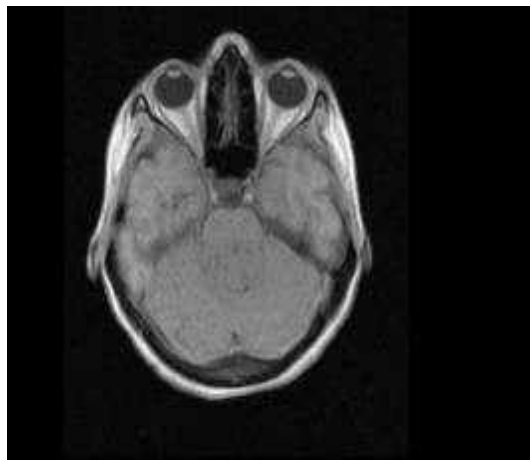
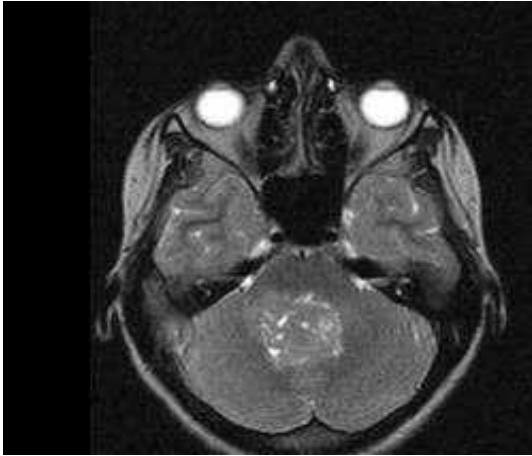


Рис. 2.1.2.1 МРТ при МБ класичного типу у дорослих.

У всіх спостереженнях, за винятком одного, МБ були солідними. Діаметр МБ у середньому 4,2 см.

При класичних МБ сигнали в T1- і T2-режимі були гомогенними, контрастування — помірним, при десмопластичних — навпаки, гетерогенними, контрастне підсилення — гетерогенним і поліфокальним (рис.2.1.2.2). При контрастуванні відзначали значну варіабельність зображення МБ: від гомогенного і помірного до інтенсивного і поліфокального. Сумісне використання T1- і T2-зважених режимів дозволило детально вивчити структуру пухлини, що сприяло вирішенню питань диференційної діагностики.

Клінічне спостереження №30. Хвора Б-а, 20 років. Анамнез захворювання — 4 міс, першими симптомами був головний біль в

потилично-шийній ділянці та стато-координаторні порушення. Через 3 міс виникли нудота та періодичне блювання, двоїння перед очима, погіршення зору.

В неврологічному статусі: двобічний симптом Керніга, парез відвідного нерву, виражена атаксія, інтенційний тремор, спонтанний горизонтальний ністагм. На очному дні - виразний застій дисків зорових нервів. За даними МРТ головного мозку в проекції МРТ хробака мозочку, медіальних відділів гемісфер, IV шлуночка виявлена пухлина 5,5×5×4,5см, що гетерогенно накопичувала контраст (рис. 2.1.2.2). Стадія за Chang T4M0. Першим етапом проведена вентрикулоперитонеостомія. Під час основної операції здійснене субтотальне видалення пухлини. Не видаленими лишились ділянки пухлини, що інфільтрували нижній трикутник ромпоподібної ямки. За даними гістологічного дослідження визначена МБ десмопластичний варіант. Стан хворої після операції важкий. Тривалий час не відновлювалось самостійне дихання, відзначались бульбарні порушення. Хвора виписана на 29 добу після операції. Катамнез не відомий.

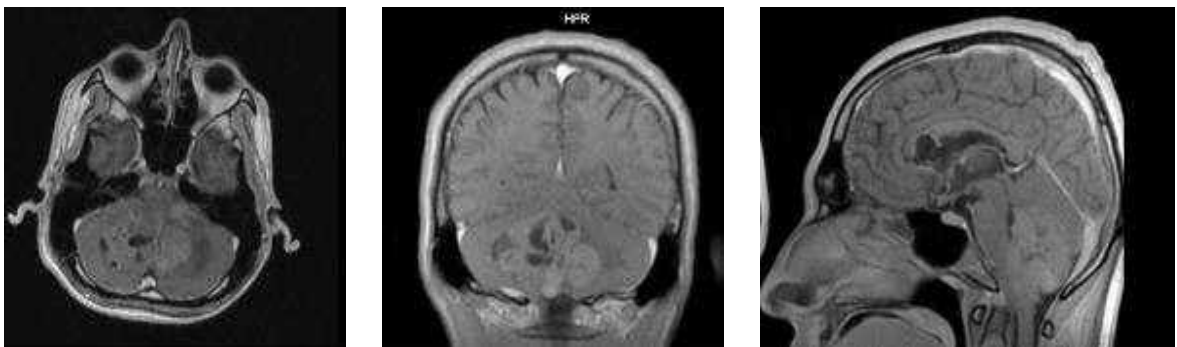


Рис. 2.1.2.2 Клінічне спостереження №30. МРТ ГМ при десмопластичній МБ. Гетерогенне накопичення контрастної речовини. Стан після ЛШО.

У десмопластичних МБ іноді виявляли зони некрозу, кальцинати. Гетерогенність МРТ-зображення МБ може бути зумовлена наявністю кіст і мікрокальцинатів.

За даними МРТ, у 78 (68%) хворих МБ поширювалася допереду і вентрально, проростала у порожнину шлуночка або стовбур ГМ. Рідше у 14 (12%) спостережень) МБ поширювалася назад і каудально (у велику цистерну мозку, верхньошийний відділ спинного мозку). У більшості спостережень МБ мала округлу форму з чіткими, рівними контурами (рис. 2.1.2.3), в 20 (13,6%) — неправильну форму та нерівні контури.

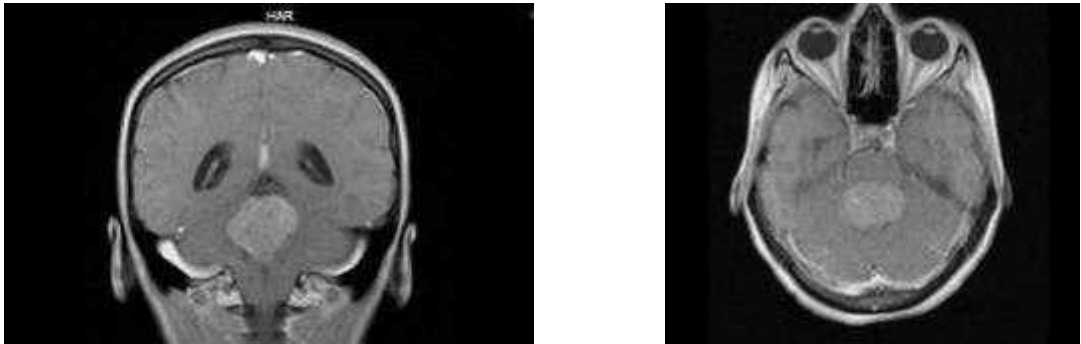


Рис 2.1.2.3. МРТ. МБ округлої форми, з чіткими контурами.

За даними КТ та МРТ у 144 (73,1%) пацієнтів визначали гідроцефалію, перивентрикулярний набряк ГМ.

МРТ з контрастуванням дозволяє виявити інтракраніальні (рис. 1.2.5) і спінальні метастази МБ (рис. 2.1.2.4), проте, не завжди ці вогнища накопичують контрастну речовину.

Клінічне спостереження №177 Хвора І-а, 20 років. Анамнез захворювання — 6 міс, першими симптомами було порушення ходи. За 1,5 міс до звернення до нейрохірурга у хворої з'явився головний біль, за 1 тиж виникли нудота та періодичне блювання.

В неврологічному статусі: двобічний симптом Керніга, виражена атаксія, інтенційний тремор. На очному дні без патологічних змін. За даними МРТ головного мозку діагностовано пухлину IV шлуночка. Під час операції здійснене тотальне видалення пухлини розміром 4,5×4×4 см, яка прилягала до стовбура мозку, Стадія за Chang Т3аМ0

За даними гістологічного дослідження діагностована МБ класичного варіанту. Після виписки хворій проведено курс КСПТ. Через 18 місяців хвора звернулась зі скаргами на двоїння перед очима, головний біль. Проведена МРТ головного мозку (рис. 2.1.2.5) виявило метастази МБ в ділянці мозолистого тіла та в проекції передніх рогів бокових шлуночків. Особливістю спотереження є відсутність накопичення контрастної речовини метастатичними вогнищами.

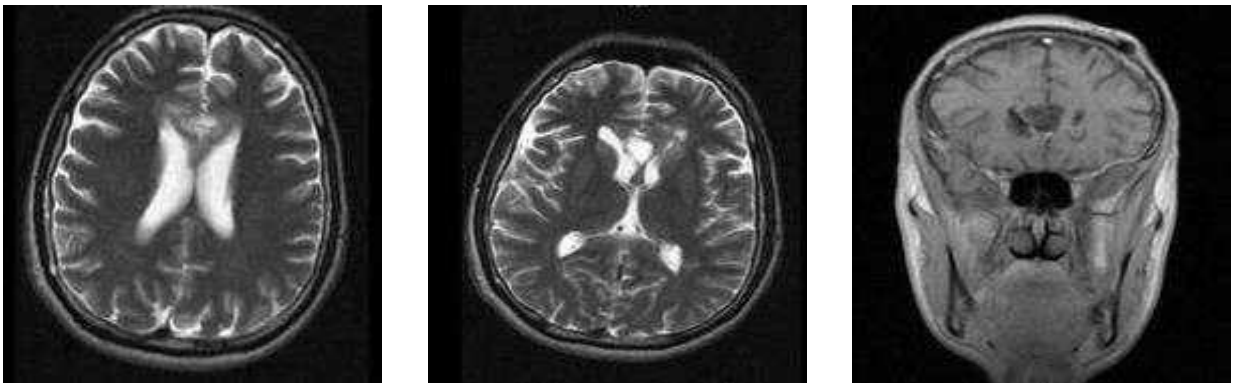


Рис. 2.1.2.4. Спостереження №77. МРТ з контрастуванням. Метастази МБ у системі шлуночків ГМ і в ділянці мозолистого тіла. Стадія за Chang -T0M2.

Клінічне спостереження №144, хвора Р-о, 25 років поступила з діагнозом МБ хробака та медіальних відділів гемісфер мозочку, що тампонує ІV шлуночок та вростає у стовбур мозку. Стадія за Chang -ТЗVM0. Анамнез захворювання — 12 міс, початок захворювання зі стато-координаторних розладів. За 2 міс до звернення до нейрохірурга у хворої з'явився головний біль.

В неврологічному статусі: спонтанний горизонтальний та вертикальний ністагм, хиткість у позі Ромберга, інтенційний тремор з 2-х боків. На очному дні без патологічних змін. Проведене часткове видалення пухлини. Відразу після виписки з стаціонару хвора отримала курс КСПТ. Через 2 роки звернулась з приводу болі у грудному відділі хребта, слабкості у нижніх

кінцівках. За даними МРТ у хворої діагностовано множинне метастазування по хребтовому каналу. Проведено повторний курс ПТ на хребтовий канал, що призвело до стабілізації захворювання. Але через рік у хворої з'явилися нові метастатичні вогнища по хребтовому каналу (рис. 2.1.2.4.) Була розпочата циклова ХТ. катамнез відомий на протязі 7 років після операції.

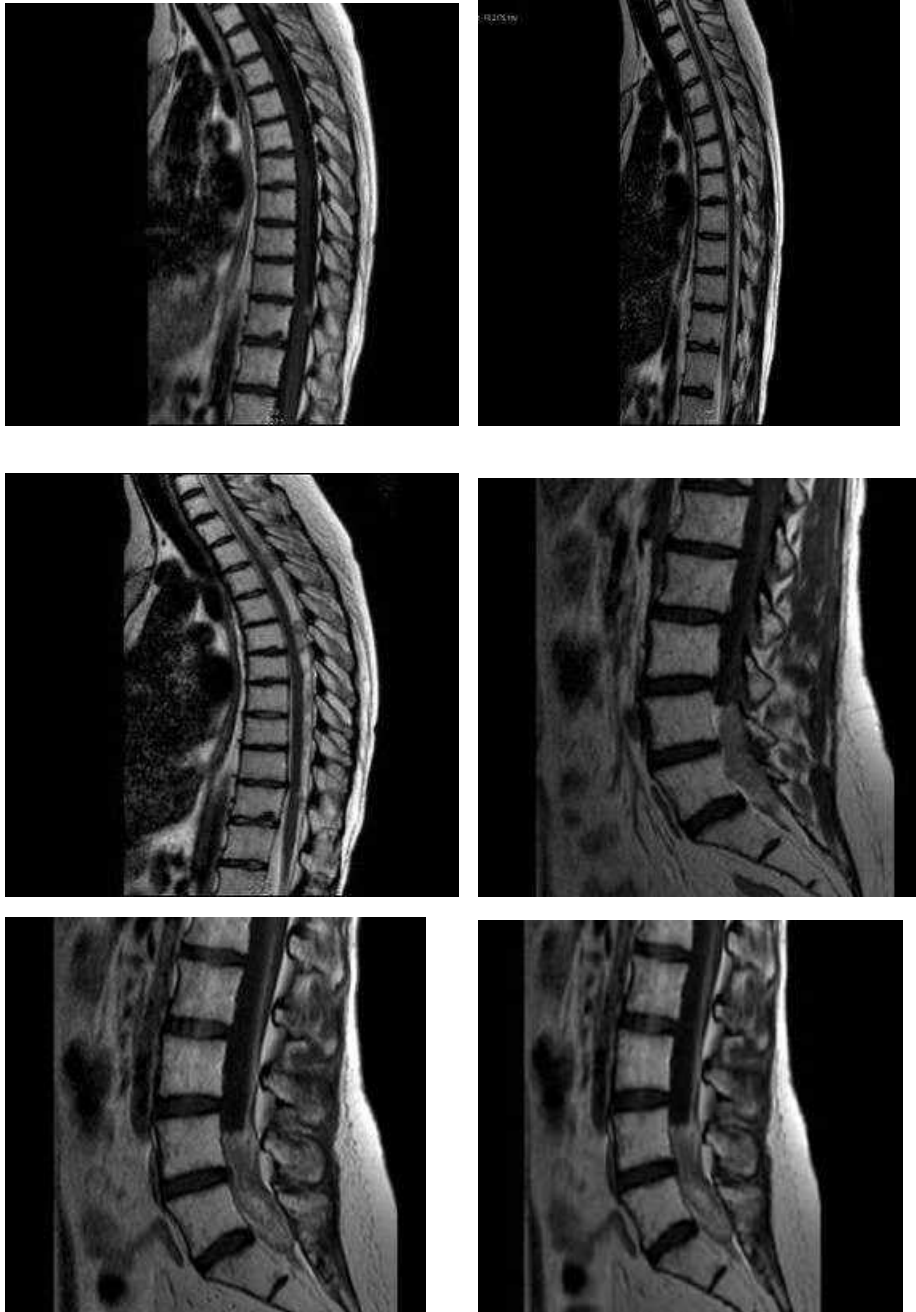


Рис. 2.1.2.4 Спостереження №144. МРТ з контрастуванням. Множинні спінальні метастази МБ, стан після неодноразових курсів ПТ і ХТ. Стадія за Chang -T0M3.

В післяопераційному періоді МРТ з контрастуванням не тільки головного мозку, а й усіх відділів хребтового каналу проводилось кожні 3-4 місяці на протязі першого року після операції і кожні 6 місяців у наступні роки. При ремісії більше 5 років МРТ скрінінг проводився 1 раз на рік. Таким чином, використання сучасних нейровізуалізуючих методів дозволяє своєчасно діагностувати не тільки пухлинне вогнище, а й метастазування.

2.1.3. Локалізація МБ мозочку у дорослих та стадіювання згідно класифікації Chang (2002)

У 87 (44%) спостережень МБ у дорослих виявляли у латеральних відділах ЗЧЯ, у 110 (56%) — по середній лінії ЗЧЯ (черв'як, медіальні відділи півкуль мозочка, IV шлуночок, стовбур ГМ). У пацієнтів молодше 30 років переважає серединна локалізація МБ (67% спостережень), у старших хворих — навпаки, латеральна (рис. 2.1.3.1).

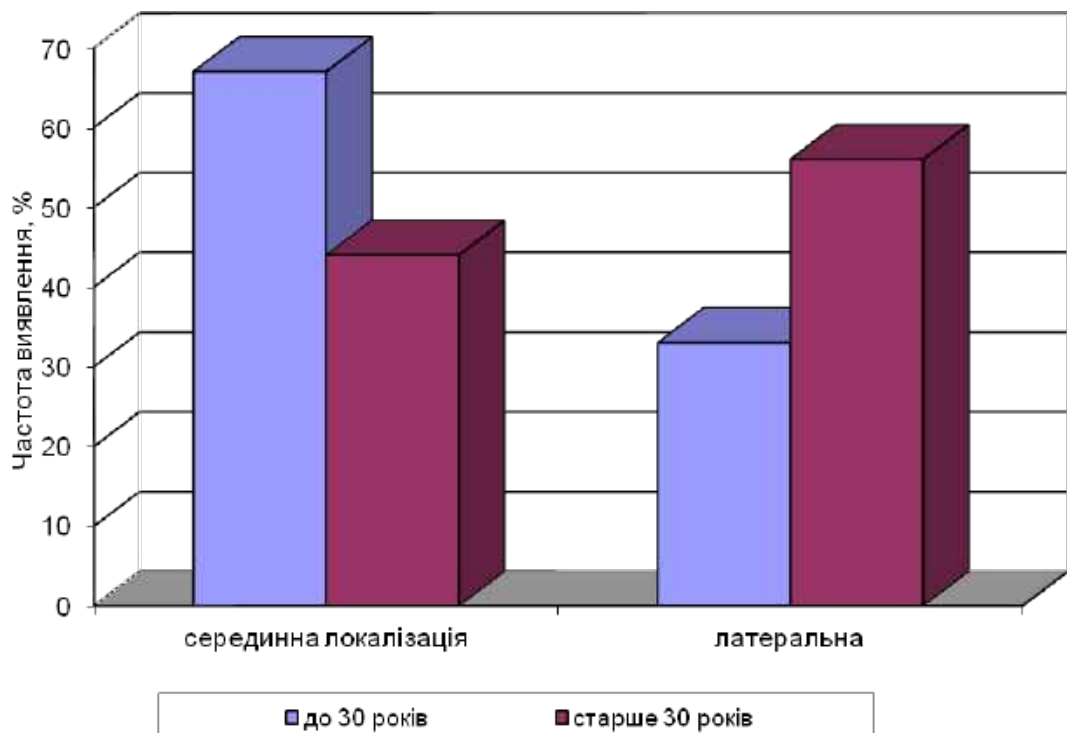


Рис. 2.1.3.1 Локалізація МБ у хворих різного віку.

На сьогоднішній день при МБ широко використовують модифіковану класифікацію Chang (2002), основану на принципах класифікації TNM

МБ за модифікованою класифікацією Chang CH (2002):

T1 — діаметр пухлини менше 3 см, її локалізації обмежена черв'яком мозочка і дахом IV шлуночка ГМ;

T2 — діаметр пухлини більше 3 см, вона проростає у навколишні структури або частково виповнює IV шлуночок ГМ;

T3a — діаметр пухлини більше 3 см, вона проростає у водопровід ГМ або в отвори Люшка і Мажанді, що спричиняє виникнення гідроцефалії;

T3b — діаметр пухлини більше 3 см, вона проростає у стовбур ГМ;

T4 — діаметр пухлини більше 3 см, проростає у стовбур ГМ, внаслідок оклюзії шляхів відтоку СМР (водопроводу або отворів Люшка і Мажанді) виникає гідроцефалія;

M0 — метастази не виявлені;

M1 — за даними мікроскопічного дослідження у СМР виявлені клітини пухлини;

M2 — метастази у субарахноїдальному просторі, III і IV шлуночках ГМ;

M3 — метастази у субарахноїдальному просторі спинного мозку;

M4 — метастази за межами ЦНС.

Розподіл спостережень МБ за модифікованою класифікацією Chang Ch представлений на рис. 2.1.3.2.

Метастази на час встановлення первинного діагнозу МБ виявлені у 3 (1,5%) пацієнтів.

Розміри пухлини до 3 см (стадія T1–T2) були виявлені у 27,9% пацієнтів. У 44,2% хворих діаметр пухлини перевищував 3 см, що зумовлювало розвиток оклюзійної гідроцефалії (стадія T3a). Великі розміри (понад 3 см) пухлини у поєднанні із її вростанням у стовбур мозку (стадії T3bM0–T4M0) виявлено у 27,9% пацієнтів.

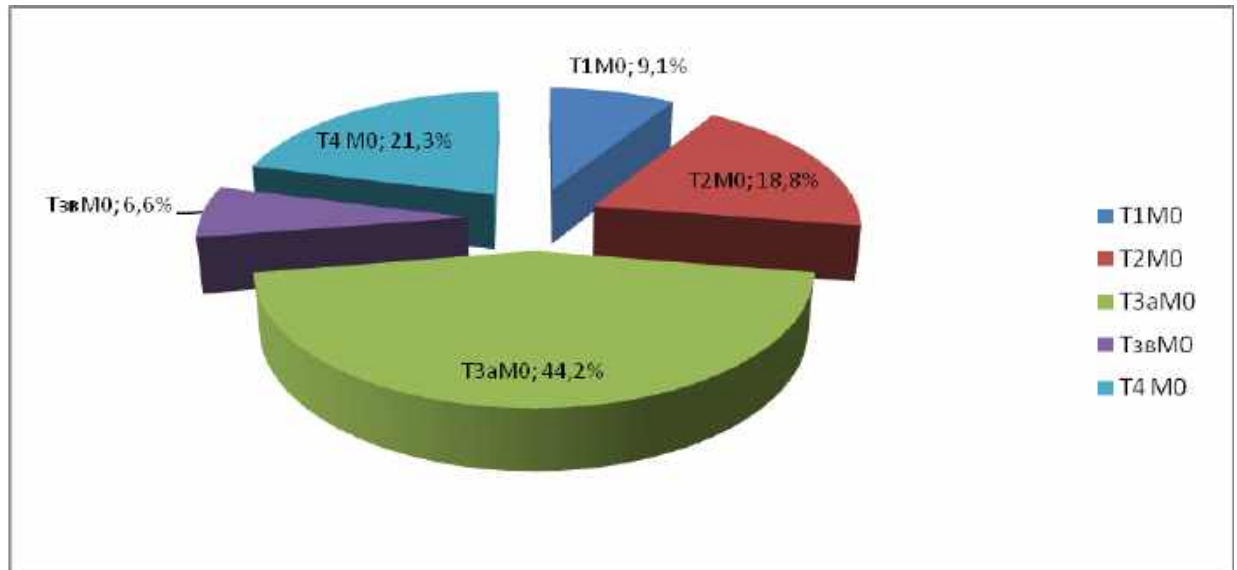


Рис. 2.1.3.2. Розподіл спостережень МБ за модифікованою класифікацією Chang SN.

Метастази на час встановлення первинного діагнозу МБ виявлені у 3 (1,5%) пацієнтів.

Розміри пухлини до 3 см (стадія Т1–Т2) були виявлені у 27,9% (55) пацієнтів. У 44,2% (87) хворих діаметр пухлини перевищував 3 см, що зумовлювало розвиток оклюзійної гідроцефалії (стадія Т3а). Великі розміри (понад 3 см) пухлини у поєднанні із її вrostанням у стовбур мозку (стадії Т3вМ0–Т4М0) виявлено у 27,9% (55) пацієнтів.

Таким чином, майже у 72,1% (142) спостережень виявлені МБ діаметром більше 3 см, яка проростає у ІV шлуночок або отвори Мажанді і Люшка та викликає оклюзійну гідроцефалію, що зумовлене досить пізнім зверненням по нейрохірургічну допомогу, і ускладнює можливість тотального видалення пухлини. Лише 27,9% (55) хворих своєчасно виявляли МБ на стадії Т1–Т2. Більш ніж у 27% пацієнтів при зверненні до нейрохірурга виявляли великі МБ, які вrostали у стовбур ГМ, що не тільки ускладнювало їх лікування, а й свідчило про певні медико-організаційні проблеми, спричинені несвоєчасним

направленням пацієнтів для проведення нейровізуалізуючих досліджень (КТ, МРТ).

2.1.4. Лікування дорослих хворих з МБ мозочку.

Всі хворі після проходження клініко - інструментального обстеження отримували передопераційну підготовку в залежності від суб'єктивного стану і об'єктивного неврологічного та соматичного статусу. При великих розмірах пухлини, що супроводжуються компресією стовбурових структур головного мозку або вираженим гіпертензійним синдромом, хворим призначалася дегідратаційна і протинабрякова терапія .

Проведено 197 хірургічних втручань з приводу первинних медулобластом і 42 — з приводу продовженого росту пухлини. З них 28 пацієнтам проведена одна повторна операція, 12 пацієнтам проведено дві повторні операції та 2 пацієнтам проведено 3 повторні операції.

Під час хірургічних втручань використовували стандартні набори нейрохірургічного та мікрохірургічного інструментарію, збільшувальну оптику (операційний мікроскоп Carl Zeiss Pentero, оптико-освітлювальний пристрій «Heine» зі збільшенням 3,5), мікробіполярну коагуляцію («Aescular»), моно- та біполярну коагуляцію («Soring»), ультразвуковий дисектор-аспіратор «Soring Sonoca 300» .

Видалення пухлини по перифокальній зоні росту (тотальне) проведено у 122 (62%), субтотальне — у 30 (15,2%), часткове — у 45 (22,8%) пацієнтів. При субтотальному обсяг видалення перевищував 95% пухлини і переважно були залишені тільки ділянки, які інфільтрували дно IV шлуночка. Таким чином, більш ніж у 77% пацієнтів виконано радикальне видалення пухлини. Часткове видалення пухлини було зумовлене анатомо-топографічними особливостями пухлини, а також щільністю і рясною васкуляризацією пухлинної паренхіми. Анатомо-топографічними особливостями, які обмежують радикальність видалення, є проростання дна IV шлуночка на великій площі, поширення і проростання пухлини у ділянку водогону мозку,

а також розповсюдження пухлини крізь бічну апертуру IV шлуночка в мозочковий кут з обростанням функціонально важливих судин і нервів. Після первинних і повторних втручань померли 8 пацієнтів внаслідок ішемічних (4), геморагічних (2) і запальних (2) ускладнень. Після 2001 р. післяопераційна летальність була відсутня.

Променеву терапію проведено після операції 193 (98%) пацієнтам. За наявності у хворого тяжких неврологічних порушень питання щодо тактики і термінів проведення променевої терапії вирішували індивідуально, після узгодження з променевим терапевтом. Середній термін до початку променевої терапії після операції становив 22 доби (від 8 до 35 діб).

Променеву терапію проводили відповідно «Протоколу діагностики та лікування медулобластом у дітей» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України №429 від 27.08.2004 р.) з урахуванням вікових особливостей. Опромінення здійснювали за схемою краніоспінального опромінення в дозі 40–60 Гр на зону операції, по 10–15 Гр на кожен відділ хребетного каналу і шлуночки мозку.

Хіміотерапію в повному або частковому обсязі проведено 16 (8,1%) пацієнтам. Різні підходи до проведення хіміотерапії пояснюються відсутністю єдиної думки щодо доцільності проведення хіміотерапії у дорослих пацієнтів з медулобластомами як в Україні, так і в світі.

2.2. Лабораторні методи досліджень.

2.2.1. Непрямий імуногістохімічний метод виявлення Ki-67

За допомогою цієї методики вивчають проліферативну активність клітин пухлини — виявляють нуклеопротеїн Ki-67, який бере участь в усіх фазах

мітотичного циклу. Експресія антигену Ki-67 починається в середині G1-фази, поступово збільшується і сягає максимуму при мітозі, по завершенні якого швидко знижується.

ІГХ дослідження виконували на серійних зрізах з парафінових блоків, площа яких становила у середньому не менше 1 см². Зрізи розміщували на небілкових адгезивних скельцях, вкритих полізином (Menzel-Glaser, США).

Використовували DACOEnVision+System, Peroxidase (DAB). Депарафінізовані зрізи занурювали у 3% розчин перекису водню (Peroxidase Block) на 10 хв, відмивали водою і фосфатним буфером по 10 хв. Після демаскування антигену зрізи промивали дистильованою водою та фосфатним буфером. Антиген Ki-67 візуалізували за допомогою моноклональних мишачих анти - Ki-67 нтитіл CloneMIB-1 (DACO, США) у розведенні 1:50 у вологій камері. Первинні антитіла, які прореагували, визначали непрямим методом за допомогою реактивів наборів DACOEnVision+System, Peroxidase та розчину DAB+Chromogen у буферному середовищі, згідно інструкції до набору. Препарати після проведення імуногістохімічної реакції допоміжно забарвлювали гематоксиліном за Бемером.

Позитивна імуногістохімічна реакція на антиген Ki-67: вважалась тоді коли: 1. ядра клітин яскраві, жовто-коричневі, особливо інтенсивно забарвлені ядерця; 2) забарвлення було лише ядерця клітин; 3) інтенсивне фарбування хромосом під час мітотичного поділу.

У тканині пухлин хворих, оперованих 2 і більше разів, яким додатково призначали ПТ після першого хірургічного втручання, вивчали ознаки лікувального патоморфозу, апоптозу, радіаційного некрозу.

2.2.2. Визначення вірусної контамінації пухлин методом полімеразної ланцюгової реакції

ПЛР — високочутливий, швидкий і дешевий метод визначення вірусної контамінації; результати дослідження доступні через 6–8 год, тоді як класичних вірусологічних методик — через кілька тижнів, крім того, застосування останніх потребує дорогого обладнання і реактивів. За допомогою ПЛР можна виявити ДНК вірусу в різних тканинах людини, у тому числі, пухлинах ГМ [190, 191, 194, 197]. Ми використовували методику ПЛР, яку застосовують при дослідженні внутрішньомозкових пухлин, у тому числі, МБ [213–215]. Існує багато різних модифікацій ПЛР, проте, найбільш поширеними є реакція з електрофоретичною реєстрацією, а також у реальному часі. ПЛР проводять у кілька етапів: підготовка проб (виділення ДНК), ампліфікація, електрофорез і реєстрація даних. Для виділення ДНК ми використовували набори ТОВ «Амплісенс» (Росія) — «ДНК-сорб-А» і «ДНК-сорб-В», які широко застосовують для виділення ДНК різних збудників, зокрема, герпесвірусів. Для визначення самих вірусів ми використовували комерційні набори ТОВ «Амплісенс» для визначення герпесів 1, 4, 7, 8 типу з електрофоретичною реєстрацією результатів ПЛР і набори фірми «ДНК-технологія» (Росія) для проведення ПЛР у реальному часі за допомогою приладу Bio-Rad.CFX-96.Real-Time System (“Bio Rad”, США) (патент України на корисну модель "Спосіб діагностики інфікування цитомегаловірусом пухлин головного мозку №u94944,; заявл. 25.02.2014; опубл. 10.12.2014,)

Ми виділяли ДНК для ПЛР із різних пухлинних зразків: з тканини «свіжих» пухлин, видалених під час операції за кілька годин до проведення дослідження і ще не фіксованих формаліном, а також ми використовували тканину пухлин, фіксовану формаліном, яка зберігалася у парафінових блоках, з яких готували зрізи для гістологічного дослідження.

Для виділення ДНК використовували тканину «свіжої» пухлини, видаленої не більш ніж за 2–3 год після операції ; морфолог відбирав шматочок новоутворення розміром 3–5 мм без видимих ознак некрозу або інтактної тканини ГМ, який промивали стерильним ізотонічним розчином натрію хлориду та переносили у пластикову стерильну пробірку типу «епендорф», яка призначена для ПЛР. У пробірки додавали по 300 мкл лізуючого розчину з набору «ДНК-сорбА», інкубували 1,5–2 год в холодильнику. Методика отримання ДНК з гістологічних зрізів розроблялась з метою розширення кола досліджень, збільшення кількості спостережень так як медулобастоми дорослих осіб є досить рідкісна патологія і тому складно за короткий термін набрати багато зразків пухлин після операції. Нами був використаний гістологічний архівний матеріал за останні 15 років — МБ дорослих, які зберігалися у відділі нейропатоморфології Інституту у парафінованих блоках (патент України на корисну модель» Спосіб отримання ДНК для полімеразно-ланцюгової реакції тканини пухлини» №– №u99734, заявл. 04.11.2014; опубл. 25.06.2015,

Підготовка тканини пухлин з парафінових зрізів проводилась у кілька етапів: 1) за допомогою мікротома робили 3–4 зрізи тканини МБ товщиною 8–10 мкм, які переносили в пробірку «епендорф», куди додавали 300 мкл лізуючого розчину; 2) з метою розплавлення парафіну та його відділення від тканин пухлини проводили нагрівання в термостаті при температурі 60°C впродовж 30–35 хв, та центрифугування при 10,0 тис. об/хв. протягом 5 хв.; 3) пробірки з зразками ставили у холодильник на 30 хв. при температурі -4°C для затвердіння парафіну; 4) після цього автоматичною піпеткою з стерильним одноразовим наконечником пробивали шар парафіну, відбирали 250 мкл розчину разом з зразками тканини і переносили у пробірку «епендорф», яку нагрівали у термостаті при температурі 37°C протягом 3 год для розчинення тканини пухлини лізуючим розчином автоматичною піпеткою; 5) з одноразовим наконечником з ватним фільтром відбирали по

100,0 мкл розчину в окремий «епендорф» пробірку для подальшого виділення ДНК.

ДНК з тканини «свіжої» пухлини та гістологічних зрізів пухлин, які зберігались у парафінових блоках, виділяли за єдиною методикою за допомогою реактивів для I етапу ПЛР, рекомендованих фірмою «Амплісенс» (Росія) у спеціальній кімнаті обладнаній для проведення першого етапу ПЛР. Коротко методика виділення ДНК заключалась в наступному: 1) відібрані для дослідження зразки пухлин, які містились в 100,0мкл лікуючого розчину ретельно перемішували на вортексі 30 секунд и прогрівали в в ПЛР-термостаті 5 хвилин при температурі 65 градусів. Після цього проводили центрифугування пробірок 5 секунд при 6000 обертів на хвилину на мікроцентрифузі, яка входить до складу ПЛР лабораторії. Якщо лікуючий розчин не розчиняв всю тканину пухлини, то повторно центрифугували при 1000,0 обр/хв. протягом 5 хвилин та відбирали надосадкову рідину автоматичною піпеткою та переносили в чисту пробірку. 2) Ретельно помішували пробірку з сорбентом на вортексі для отримання рівномірної суспензії сорбенту. В кожную пробірку вносили по 25 мкл ресуспензованого сорбента та перемішували на вортексі 30 секунд та витримували 5 хвилин при кімнатній температурі. Пробірки повторно центрифугували при 5000,0 обр/хв.. на протязі 30 секунд. Рідину яка була над осадом обережно видаляли, а осад використовували в подальшій роботі. 3) В пробірки з осадом добавляли по 300 мкл розчину для відмивки та перемішували на вортексі до повного ресуспензування, а потім центрифугували при 5000,0обр/хв. На протязі 5 хвилин та видаляли надосадову рідину, для чого використовували новий наконечник до піпетки з ватним фільтром. 4) В пробірки з пробами добавляли знову 500,0 мкл розчину №2 для відмивання, перемішували на вортексі до повного ресуспензування, центрифугували та видаляли надосадову рідину новим наконечником. З ватним фільтром. 5) Повторно проводили відмивання сорбенту з ДНК розчином №2 та удаляли над осадову рідину. 6) Пробірки з осадом сорбента прогрівали в термостаті

при 65⁰ на протязі 5 хвил. для підсихання осаду. 7) Для елюції ДНК із сорбента в пробірки с осадом добавляли по 50 мкл ТЕ буфера, перемішували на вортексі і інкубували в термостаті при 65⁰ на протязі 5 хвилин. 8) Пробірки центрифугували на максимальних обертах центрифуги та новим наконечником забирали в нову пробірку надосадочну рідину, у якій знаходилась загальна ДНК що отримана була із тканини пухлини.

Зразки ДНК в об'ємі 50 мкл використовували для подальших досліджень на 2 етапі ПЛР, який проводили через 18-24 години, Дубльовані зразки ДНК пухлин зберігали при температурі - 20°C протягом 2–3 міс. Вміст та чистоту ДНК визначали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 260 нм для нуклеїнових кислот і 280 нм — для білків. Відношення показників спектрофотометра 260 /280 складало 1,6-1,8, що свідчило про отримання чистої фракції ДНК.

Наступний етап ПЛР — ампліфікація, яку проводили за допомогою приладу «Терцик» («ДНК технологія», Росія) з використанням комерційних наборів для визначення герпесвірусів 2, 4, 7, 8 і ЦМВ. Виділення ДНК на I етапі контролювали за допомогою дослідження з загальноприйнятими праймерами гену β-актину (гену «домашнього господарства»), який широко використовують у наукових і клінічних дослідженнях як маркер наявності ДНК у пробі. В якості праймерів гену β-актину використовували такі послідовності нуклеотидів, For: TTGC, AGA, AGG, AGA, TTA, CTG, CC; Rev: GST, CAG, TAA, CAG, TCCG [193, 194]. Крім комерційних наборів для визначення ДНК герпесвірусів використовували праймер суперраннього гену ЦМВ — EA-гену, який, за даними ряду авторів, виявляють у 80–92% злоякісних пухлин ГМ [196, 212]. Цей праймер EA-гену має таку послідовність For: 5'-gtg-acc-cat-gtg-ctt-atg-act-cta-t-3'; Rev-3'-ctc-aac-ata-gtc-tgc-agg-aac-gt-5', ми використовували його при ПЛР у реальному часі в дозі 20 мкмоль (набір реактивів фірми BioRad, Seo Fast Eva Green Supermix, США) [212]. II етап ПЛР проводили за допомогою ампліфікатора «Терцик» фірми «ДНК технологія» (Росія). Коротко методика 2 етапу заключалась в

наступному : з набору для визначення відповідних вірусів брали необхідну кількість пробірок з уже розкрапленими реактивами для цього етапу. Паралельно брали позитивний та негативний контрольний зразок. На поверхню воску наносили по 10 мкл ПЛР суміші №2 та каплю вазелінового масла. В дослідні пробірки на масло вносили по 10 мкл отриманої ДНК, а контрольні пробірки по 10 мкл ДНК буфера. 2). Підключали прилад «Терцик» і створювали програму ампліфікації згідно протоколу до набору, дотримуючись покрокових режимів 95–65–72°C (35–40 циклів), та режиму збереження 72⁰ 1 хв. В «Терцик» ставили дослідні та контрольні зразки та проводили ампліфікацію, по завершенні якої проводили наступний етап ПЛР. В якості контролю використовували рекомендовані позитивні та негативні зразки вірусів, які додавалися до наборів.

III етап ПЛР — отримані після ампліфікації проби розділяли за допомогою електрофорезу в агарозі з етидіумом йодидом, для чого готували нагрітий до 85⁰С 1,5% розчин агарози на трисборатному буфері, який заливали на спеціальну камеру з спеціальними «гребінками». Після застигання агарози, видаляли гребінку та розміщали пластину с агарозою в камеру для електрофореза с трисборатним буфуром. В утворені лунки в агарозі вносили по 10 мкл досліджуваних зразків після етапу ампліфікації та проводили електрофорез на приладі «Ельф-4» при напрузі 250 Вольт, на протязі 20 хв.

4 етап ПЛР заключався в реєстрації даних за допомогою транслюмінатора та програми «Біотест». Результати ПЛР зберігались в базі даних програми «Біотест» для ПК.

На рис.1 показані результати реакції ПЛР, де видна експресія гену β-актину та деяких вірусів у досліджуваних зразках пухлин. Як видно із рисунка у всіх зразках пухлин присутній ген β-актину, що свідчить про наявність у цих зразках ДНК, тобто про якісне виділення із пухлин ДНК, тоді як експресія ДНК ЦМВ у пухлинах досить рідка і вона виявлялась лише у

одному випадку, це 4 зразок пухлини. Контрольні позитивні та негативні зразки показані з правої сторони електрофореграми.

Поряд з цим варіантом постановки ПЛР з електрофоретичною реєстрацією результатів ПЛР, нами була використана і ПЛР у реальному часі, де об'єднані 2 останні етапи реакції ампліфікації і реєстрації в один етап і яка, як вважається більш чутлива та специфічна. Для ПЛР у реальному часі використовували відповідні набори «ДНК технологія» (Росія)

Результати ПЛР у реальному часі мають вигляд (рис. 2.2.2.2), які характеризують 2 показники: початок накопичення ампліфіконів (ампліфікація) і їх кількість (флуоресценція).

Результати ПЛР у режимі реального часу аналізували за допомогою пакету програм «BioRad».

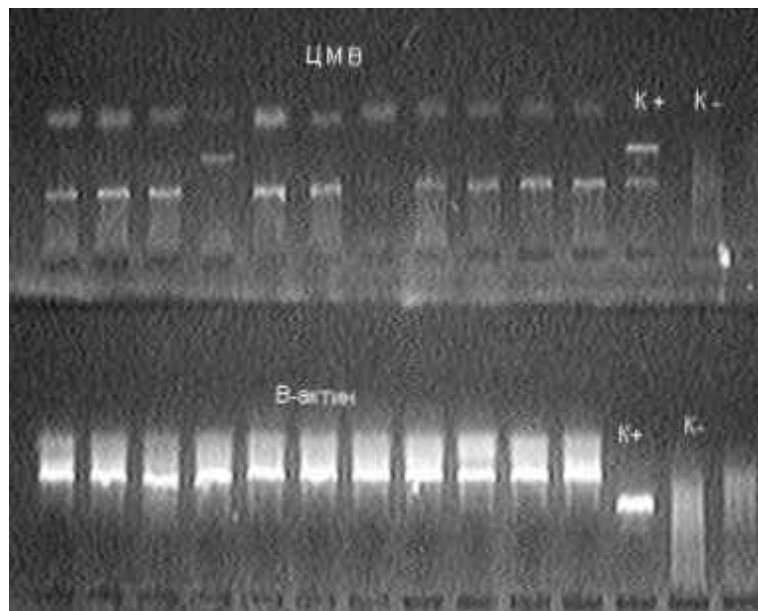


Рис 2.2.2.1. Електрофоретичне визначення наявності ДНК ЦМВ у зразках пухлин за допомогою набору фірми «Амплісенс» (Росія) (верхній рядок) і реакції з праймером гену β-актину (нижній рядок).

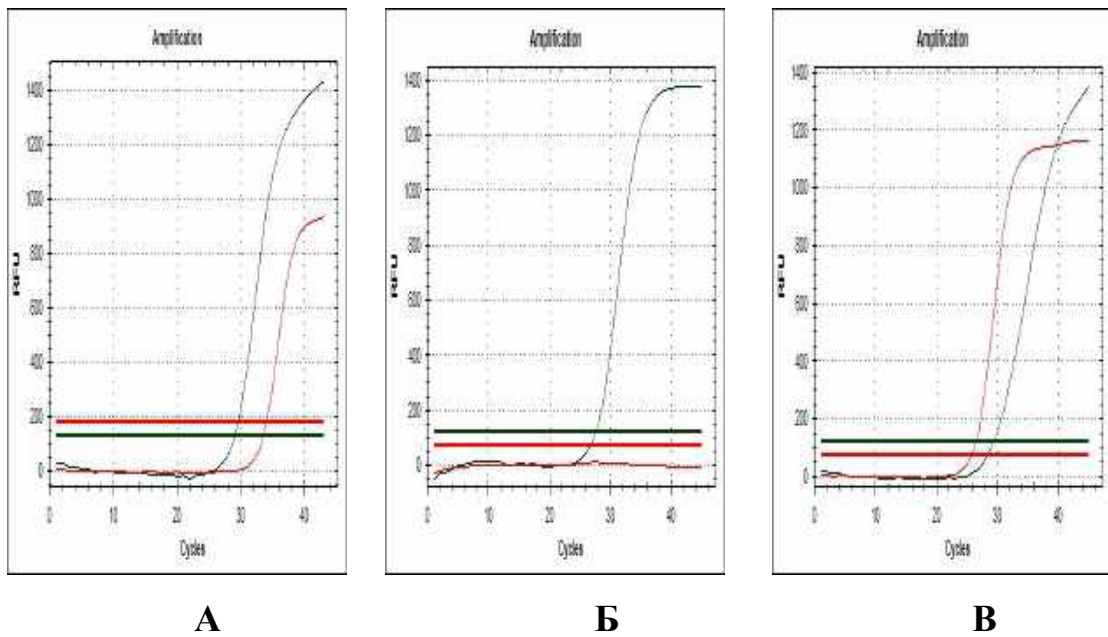


Рис 2.2.2.2. Виявлення ЦМВ методом ПЛР у реальному часі. А — зразок пухлини позитивний на ЦМВ; Б — зразок пухлини негативний на ЦМВ; В — позитивний контрольний зразок з набору для визначення ЦМВ у реальному часі.

Методика постановки ПЛР у режимі реального часу.

Виконання ПЛР в режимі реального часу має цілий ряд переваг перед ПЛР з електрофоретичною постановкою та реєстрацією результатів. Перелік переваг досить великий, приводимо лише основні: 1, В ПЛР реального часу об'єднано в один етап три різні етапи методики з електрофоретичною реєстрацією результатів; 2. Методика ПЛР реального часу завдяки комп'ютерній програмній обробці результатів дає можливість визначати як початок, так і закінчення реакції ампліфікації, визначається так званий пороговий цикл «Сt» коли прилад починає реєструвати флуоресценцію по фарбнику Fam, який зв'язаний із специфічними праймерами генів збудників; 3. У методиці ПЛР реального часу використовується два флуоресцентні барвники - один зелений «HEX» використовується для праймерів внутрішнього контрольного зразку, який додається у всі пробірки разом з реактивами і показує як проходить реакція ампліфікації, чи не допущені помилки на етапі приготування реактивів для реакції. Відсутність на екрані

комп'ютера кривої контрольного зразку вказує на помилку в постановці реакції і це трактується як «фальшива» негативна проба, яка потребує пошуку помилки та її корекції. Помилка можлива на етапах підготовки реактивів, побудови протоколу ампліфікації, внесення не досить добре виділеної ДНК із біологічного матеріалу. Внутрішній контрольний зразок ампліфікації показаний на рис 2.2.2.2 (Б) де видно одну криву яка стрімко зростає, що свідчить про успішне проведення ПЛР. Друга флуоресцентна мітка фарбник Fam, яка з іншим спектром флуоресценції і зв'язана із специфічним праймером, за допомогою якого досліджуємо той чи інший збудник. При позитивній реакції на екрані виникає крива іншого кольору, яка може бути раніше або пізніше в порівнянні з внутрішнім контролем, що визначається кількістю ДНК збудника. ЦЕ показано на рис 2.2.2.2 (А,В). При негативному результаті реакції ПЛР крива Fam має вигляд горизонтальної лінії; 4 . Реєстрацію результатів ПЛР реального часу частіше проводиться по пороговому циклу «Ct», або по інтенсивності флуоресценції. При наявності у фірмових наборах контрольних позитивних зразків призначених для кількісного визначення збудників проводиться ПЛР з різними позитивними контролями та визначається після реакції кількість збудника в окремій пробі.

Приведені коротко дані про основні технічні переваги реакції ПЛР реального часу над ПЛР з електрофоретичною реєстрацією можна доповнити тим, що перша реакція проходить на протязі 1,5-2 годин тоді як остання займає 5-6 годин та виконується 2 або трьома співробітниками, чого вимагають вимоги по попередженню контамінації (забруднення) реактивів, що може приводить до отримання «хибно позитивних» результатів.

В той же час проведення ПЛР реального часу потребує створення спеціального протоколу ампліфікації, який залежить від реактивів та властивостей праймерів досліджуваних патогенів. Для вірусів герпесної групи фірма «ДНК-технологія» розробила наступний протокол: 1 етап. - 1мин. - 80⁰С та 1 мин. 30 сек.- 94⁰С – 1 цикл; 2 етап – 30 сек. - 94⁰С та 45

сек. - 64⁰С - 4 цикли; 3 етап – 10 сек. - 94⁰С та 45 сек. по 64⁰С -= 44 цикли; 4 етап охолодження до 10⁰С та реєстрація результатів. Графічно програма ампліфікації виглядає так як показано на рис 2.2.2.3. і вона зберігається в пам'яті приладу для повторного використання.

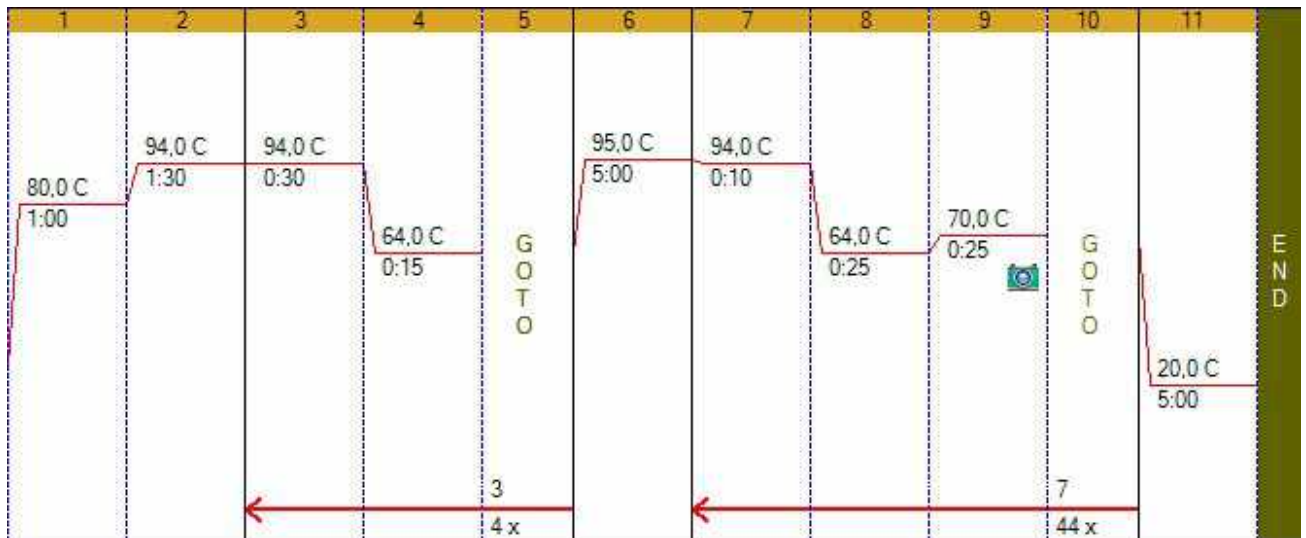


Рис. 2.2.2.3 Графік протоколу ампліфікації ПЛР реального часу вірусів ЦМВ та ВЕБ на приладі «Bio Rad» CFX -96 tm

Сама методика підготовки до проведення ампліфікації на приладі ПЛР реального часу фірми «Bio Rad» CFX -96 tm не складна проводилась по інструкції виробника і коротко заключалась в наступному:

1. Виділення ДНК проводили одним із перерахованих наборів фірми «Амплісенс» в об'ємі 50 мкл., зберігали при 4⁰С; і на протязі 24-48 годин використовували в реакції ампліфікації.
2. Із набору для ампліфікації в ПЛР реального часу відбирали та маркували пробірки для кожного зразку, а також брали пробірки для позитивного та негативного контролю.
3. Розносили мікропіпеткою по 10 мкл розчину Tag- полімерази та центрифугували при 6000 об./мин 5 сек.
4. В пробірки добавляли по каплі мінерального масла та по 5 мкл виділених зразків ДНК вірусів.

5. В контрольні позитивні та негативні пробірки вносили відповідні стандартні зразки із набору, всі проби центрифугували при 6000 об . 5 сек.

6 . Всі проби закривали кришками та поміщали в прилад для ампліфікації, який програмували та виставляли об'єм розчинів -35 мкл. Після 2 годинної ампліфікації знімали показники по контрольному каналу HEX та по специфічному каналу Fam та реєстрували величину порогового циклу – Ct показник. Реакція вважалась позитивною, якщо Ct показник був менше ніж 35,0 циклів, а якщо більше то реакція була негативна. По каналу детекції HEX визначали відхилення в реакції і якщо вони виникали реакцію ампліфікації даного зразку повторювали.

2.2.3. Імуногістохімічне визначення стовбурових пухлинних клітин у медулобластомах та інших пухлинах головного мозку

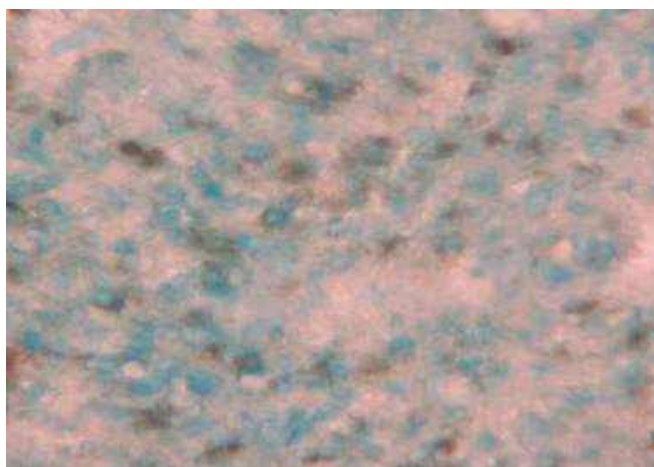
Для виявлення СПК у тканині пухлин використовували моноклональні антитіла до CD-133 антигену — мембранного протеїну (променіну-1) (Clon 17AG.1) фірми “Millore Corporation” (США) у розведенні 1:100. Ці моноклональні антитіла широко використовують для вивчення СПК різних пухлин людини, зокрема, ГМ, простати, грудної залози тощо. Існує багато методик ІГХ досліджень, вони добре відпрацьовані. Ми використовували набори фірми “Terma Fisher Scientitic Anatomical Pathology” (Велика Британія), забарвлення здійснене згідно рекомендованого фірмою-виробником протоколу [168, 172–174].

Зрізи пухлин товщиною 4–5 мкм розміщували на високоадгезивних предметних скельцях, вкритих полілізином, які в подальшому забарвлювали для дослідження з моноклональними антитілами CD-133. Гістологічні препарати спочатку депарафінізували за допомогою ксилолу, проводили через розчини етилового спирту 96, 76 і 50°C. Для реактивації антигенів зрізи прогрівали у цитратному буфері (pH=6,0) на водяній бані при температурі

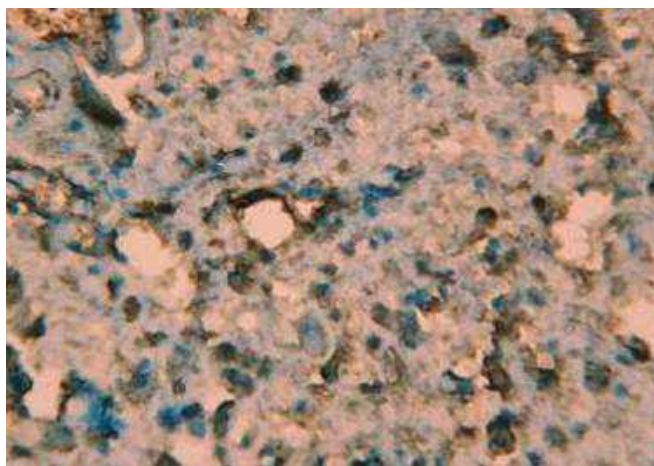
96–98°C протягом 20 хв. Після цього скельця на 2 год. залишали при кімнатній температурі (19–22°C). Подальше фарбування зразків здійснене за допомогою комплекту для ІГХ досліджень фірми “Terma Fisher Scientitic Anatomical Pathology” (Велика Британія). Для інактивації ендогенної пероксидази з метою запобігання неспецифічного фонового забарвлення скельця інкубували у Hydrogen Peroxidase Block протягом 10 хв, потім — двічі промивали фосфатним забуфериним фізрозчином (рН=7,2) і додавали реактив Ultra V block на 5 хв. для блокування неспецифічної фіксації імуноглобулінів на клітинах пухлини. Зразки повторно двічі відмивали забуфериним фізрозчином, скельця підсушували фільтрувальним папером або марлевым тампоном. На скельця наносили моноклональні антитіла CD-133 в розведенні 1:100 (для розведення використовували спеціальний розчин з комплекту реактивів). Скельця з нанесеними антитілами витримували у вологій камері при температурі 4°C протягом 16–20 год. Потім антитіла змивали зі скелець ізотонічним розчином натрію хлориду і ще двічі промивали протягом 5 хв. Скельця підсушували фільтрувальним папером, наносили вторинні антитіла з комплексу Primary Antibody Amplifier Quanto на 10 хв. Знову промивали забуфериним фізрозчином, підсушували, наносили наступний реактив — HRP Polymer Quanto на 10 хв. Після чого знову двічі промивали забуфериним фізрозчином, підсушували, додавали DAB chromogen Quanto та DAB Substrate Quanto на 3–5 хв до появи жовтого забарвлення. Скельця 4 рази промивали дистильованою водою, підсушували, дофарбовували 0,1% розчином метилового зеленого, заключали в бальзам, покривали покривним скельцем. Для негативного контролю реакції замість моноклональних антитіл використовували сироватку крові білих лабораторних мишей в розведенні 1:100 або реакцію проводили без моноклональних антитіл [168].

На рис. 2.2.3.1 наведена специфічна імуногістохімічна реакція — забарвлення CD-133 антитілами клітин МБ і ГБ (коричневе забарвлення), у негативному контролі коричневе забарвлення відсутнє. На клітинах

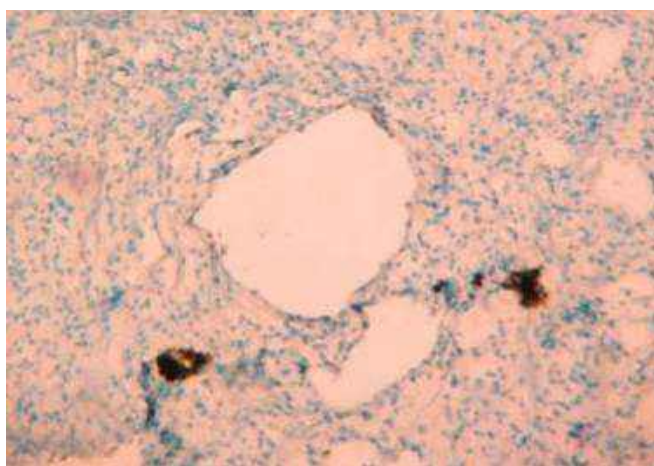
гліобластом фіксується більше CD-133 антитіл, що свідчить про більшу кількість СПК у цих пухлинах в порівнянні з МБ.



А



Б



В

Рис. 2.2.3.1. Мікрофото. Специфічна ІГХ реакція — забарвлення CD-133 антитілами клітин пухлини: А — МБ; Б — ГБ; В — негативний контроль. Зб.×400.

Для кількісного визначення СПК у МБ та інших новоутвореннях застосовували бальний принцип, запропонований Singh S.K. і співавторами [172] та Tang N.G. і співавторами [167]. Кількість СПК визначали в 10 полях зору: 1 бал — поодинокі клітини в полі зору, 2 бали — 5–10 клітин, 3 бали — 20 і більше CD-133⁺ клітин (рис. 2.2.3.2).

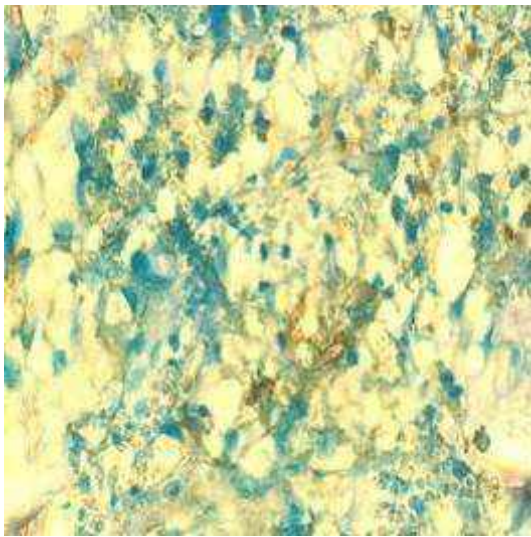
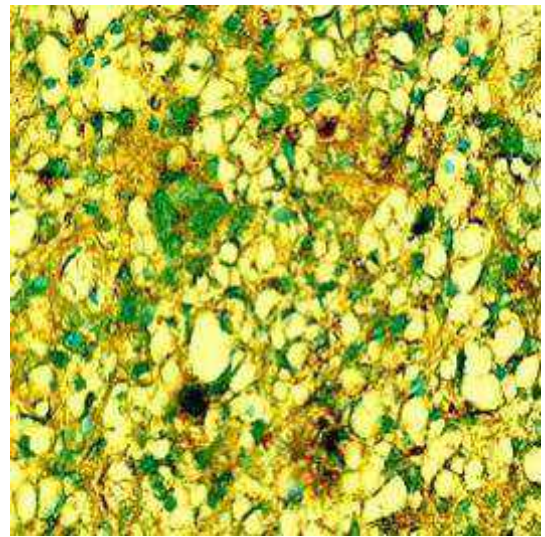
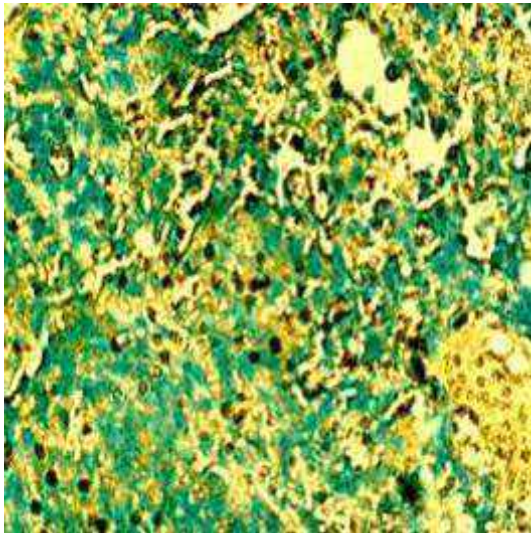
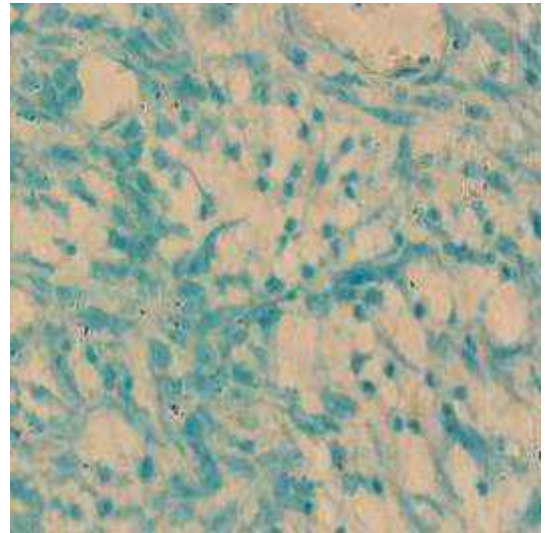
**А****Б****В****Г**

Рис. 2.2.3.2. Мікрофотго. Кількісне представництво СПК у МБ, балів: А — 1 бал; Б — 2 бали; В — 3 бали; Г — 0 балів.

Таке напівкількісне визначення вмісту СПК в окремих зразках пухлин дозволяє не лише констатувати факт наявності чи відсутності СПК в конкретній пухлині, а також говорити про якісні відмінності між тими пухлинами де є СПК [167]. На представлених рисунках видно також, що клітини медулобластом та гліобластом забарвлюються CD-133 антитілами, з різною інтенсивністю, що може свідчити про неоднакову експресію на них CD-133 молекули - променіна 1.

2.2.4. Фенотипування клітин пухлин головного мозку за допомогою моноклональних антитіл

У дослідженні використовували зразки МБ, видалених під час нейрохірургічних втручань хворих віком від 1,5 до 44 років. Діагноз МБ встановлений за результатами гістологічного дослідження. З тканини видалених пухлин брали шматочки розміром 3–5 мм, які вносили у поживне середовище 199 в чашки Петрі, подрібнювали за допомогою ножиць, фільтрували через нейлоновий фільтр. Отриману суспензію клітин пухлини двічі центрифугували при 1000 об/хв протягом 5–7 хв. Відмиті клітини МБ суспендували у 2 мл середовища 199, кількість клітин підраховували за допомогою камери Горяєва (додавали 3% оцтову кислоту), визначали частку живих клітин за допомогою 0,1% розчину трипанового синього [149, 150]. Зразки використовували у подальших дослідженнях, якщо частка живих клітин перевищувала 70%. Ми використовували панель з 8 моноклональних антитіл (молекулярних маркерів), за допомогою яких визначають активацію, адгезію та апоптоз клітин. Паралельно у суспензії клітин пухлини визначали частку імунних клітин за допомогою моноклональних антитіл CD-45 і CD-3 і за допомогою яких визначають антигени, які відповідно експресовані на всіх лейкоцитах та Т-лімфоцитах.. За допомогою CD-34 антитіл у суспензії пухлинних клітин визначали гемопоетичні стовбурові клітини, за допомогою

CD-56 моноклональних антитіл виявляли нейрональну молекулу адгезії, яка експресується нервовими клітинами і характеризує адгезивну та міграційну здатність клітин медулобласом. За допомогою моноклональних антитіл CD-38 і CD-25 можна виявити активаційні молекули, що характеризують проліферативний потенціал клітини; CD-38 — антитіла до АДР-рибозил трансферази — рецептора проліферації, CD-25 — до рецептора ІЛ-2 — цитокіну, що стимулює проліферацію клітин. Апоптотичну готовність клітин медулобластом (наявність Fas-рецептора апоптозу на клітинах пухлин) визначали за допомогою CD-95 антитіл [153]. Наявність онкопротеїну Р-53 визначали за допомогою специфічних антитіл. Всі моноклональні антитіла вироблені фірмою «Сорбент» (Росія). Підрахунок забарвлених моноклональними антитілами клітин МБ здійснений за допомогою проточного лазерного аналізатора «Callibur» (фірма Becton Dickinson, США) або приладу «Coulter Beckmann» (США). Методика фенотипування клітин МБ за допомогою різних типів моноклональних антитіл була типовою, згідно методичних рекомендацій з фенотипування клітин [288] та фірмової інструкції по застосуванню антитіл. Методика реакції клітин медулобластом з моноклональними антитілами була наступна. У пластикову пробірку об'ємом 2,0 мл вміщували суспензію клітин МБ об'ємом 50 мкл (концентрація клітин в 1 мл становила 2×10^6) у ізотонічному розчині натрію хлориду і 50 мкл відповідних моноклональних антитіл у робочому розведенні, згідно інструкції. Пробірки залишали на 30 хв при температурі 4–8°C, потім — центрифугували при 1500 об/хв протягом 5–7 хв. Відбирали над осадову рідину, осад клітин пухлини ресуспендували у 1,5 мл охолодженого ізотонічного розчину натрію хлориду, повторно центрифугували, відбирали над осадову рідину за допомогою піпетки. До осаду клітин, що залишився, додавали 50 мкл вторинних антиглобулінових антитіл, мічених флуорохромом (флуоресцеїн ізоціанатом), інкубували 30 хв при температурі 4°C. Проби повторно центрифугували, видаляли над осадову рідину. Клітини знову суспендували у 50 мкл ізотонічного розчину натрію

хлориду, наступним етапом додавали 50 мл 0,4% розчину формальдегіду, який зупиняв реакцію і фіксував клітини. Проби зберігали у холодильнику до 2–3 діб, потім підраховували кількість клітин за допомогою проточного лазерного цитофлюориметра згідно програм для фенотипування.

2.2.5 Визначення антитіл до герпестичних вірусів в сироватці крові хворих на пухлини головного мозку методом імуноферментного аналізу.

Відомо що віруси герпесної групи відносяться до найбільш поширених збудників людини про що свідчать численні дослідження про наявність антитіл до цих вірусів, а саме вірусу простого герпесу 1 типу, в периферійній крові 94-98% здорового населення у віці після 20-25 років. Це указує як на клінічно легкий, а в більшості випадків на латентний скритий перебіг цієї інфекції, так швидке інфікування цими вірусами та легкий механізм передачі, який в більшості випадків проходить повітряно – крапельним шляхом. Поширеність інших вірусів герпес групи, а саме ЦМВ, досліджена значно менше і інфікування ними частіше буває при порушенні імунного захисту організму та вторинній імуносупресії, наприклад при трансплантації органів, онкологічних захворюваннях, синдромі набутого імунодефіцита. Часте виявлення в біопсійному матеріалі пухлин, а саме медулобластом та гліом, вірусів, про що указувалось в огляді літератури , потребувало дослідження наявності та частоти інфікування цих хворих та стану противірусного імунітету. З цією метою було досліджено рівень антитіл класу Ig M та IgG до вірусів простого герпесу 1 типу та ЦМВ в сироватці крові нейронкологічних хворих та хворих на хронічні запальні неврологічні захворювання. З цією метою були проведено визначення рівня антитіл класу Ig M та IgG до вірусів простого герпесу 1 типу та ЦМВ в сироватці крові на момент обстеження при поступленні на лікування за допомогою діагностичних імуноферментних наборів (ІФА), які широко використовуються в діагностичній практиці направлених на виявлення

активації цих інфекцій. В роботі використовувались ІФА- набори «Вектор Бест» (Росія, Новосибірськ), дослідження проводили згідно інструкції та протоколів рекомендованих виробником. Принцип непрямого імуноферментного методу визначення антитіл до вірусів полягає в тому, що в лунках полістиролового планшета попередньо адсорбується вірусний антиген в певній стандартній відпрацьованій попередньо дозі. Потім на цей адсорбований антиген вноситься досліджувана на проти вірусні антитіла сироватка периферійної крові пацієнта та інкубується певний час, протягом якого проходить зв'язування відповідних антитіл з адсорбованим антигеном. Після видалення не зв'язаних с антигеном протеїнів сироватки та кількаразового відмивання від залишків сироватки наносяться спеціальні антитіла проти глобулінів людини, до яких приєднана пероксидаза хрину, по якій ми визначаємо реакцію. Між сорбованими на антигені противірусними антитілами та антиглобуліновими антитілами проходить зв'язування, яке потім виявляється по хімічній реакції між пероксидазою та розчином тетраметилбензидина (ТМД). Результати реакції аналізуються на Імуноферментному аналізаторі та порівнюються з контрольними позитивними та негативними зразками. Сироватки крові хворих отримували шляхом центрифугування згорнутої крові при 1500,0 обр/хв.. і зберігали в пластикових пробірках в об'ємі 1,1-1,5 мл. при температурі мінус 20⁰ С. Термін зберігання був 2-2,5 місяці. Всі зібрані зразки сироватки крові досліджувались разом на одному наборі, що дозволяло запобігати отриманню хибних результатів та уникнути розбіжностей у величині показників. Методика постановки була наступна. 1. Готовили згідно інструкції необхідні розчини із реактивів, які входять в ІФА набір . 2. Розводили досліджувані зразки сироваток в 10 разів відповідним стандартним розчином для розведення. 3. В лунки ІФА планшета вносили спершу контрольні позитивні та негативні зрази ,які є в наборі ,а потім розливали по 100,0 мкл досліджуваних розведених в 10 раз сироваток крові та інкубували в термостаті при 37⁰ С 30 хвилин. 4. Акуратно зливали в

раковину вміст лунок та 2 рази промивали їх промивочним розчином за допомогою 8 каналної піпетки. 5. Вносили по 100 мкл. робочого розведення кон'югата, який складається із антитіл до глобулінів людини та пероксидази хрину, та інкубували в термостаті при 37°C 30 хвилин. 6. Знову проводили відмивку як указано у пункті 4 - акуратно зливали в раковину вміст лунок та 2 рази промивали їх промивочним розчином за допомогою 8 каналної піпетки. 7. Вносили у всі лунки 100,0 мкл приготовленого розчину ТМД та інкубували при кімнатній температурі 20 хвилин в темноті, а потім вносили 100,0 мкл стоп-реагенту для зупинки реакції. 8. Проводили вимірювання оптичної щільності у кожній луночці планшету на імуноферментному аналізаторі із вертикальним скануванням при довжині хвилі - 450 нм. Час між зупинкою реакції та виміром оптичної щільності складав 8-10 хвилин. 9. Розрахунок середніх арифметичних величин оптичної щільності піддослідних зразків сироватки крові в лунках проводи з урахуванням показників контрольних позитивних та негативних зразків користуючись відповідними рекомендаціями, які розроблені для кожного окремого ІФА набору. Реєстрацію реакції проводили на ІФА аналізаторі – цифровому UV-VIS спектрофотометрі PD-303UV, (компанії Apel.Co ...Ltd, Японія).

2.2.6. Статистична обробка клінічних даних і результатів лабораторних досліджень

Основними критеріями ефективності лікування була медіана безрецидивного виживання та оцінка стану хворих за шкалою Карновського після лікування.

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою пакета програм MS Office та "Statistica". Розраховували частотні характеристики показників (у %), середні арифметичні величини, оцінку їх варіабельності (середнє квадратичне відхилення (σ), середню похибку (m)). Оцінку статистичної

значущості різниці між групами проводили для порівняння кількісних показників у разі нормального розподілу даних за t-критерієм, у разі невідповідності даних параметрам нормального розподілу — за критерієм Манна–Уїтні, для якісних показників — за критерієм χ^2 . Для визначення тривалості безрецидивного виживання хворих використовували методику Каплана–Мейєра із застосуванням критерію Вилкоксона–Гехана. Як інтегральний показник, який характеризує асиметричний розподіл тривалості життя хворих, використовували медіану безрецидивного виживання (мінімальний часовий проміжок, до якого доживає 50% пацієнтів без появи ознак продовженого росту або метастазування). Відмінності між показниками вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДУЛОБЛАСТОМ У ДОРΟΣЛИХ ХВОРИХ

3.1. Морфологічна характеристика медулобластом у дорослих

На сьогоднішній день лікувальна тактика при МБ поєднує хірургічне втручання, ПТ і ХТ. За останні десятиліття розроблені спеціальні схеми ПТ і ХТ при МБ, використання яких сприяло значному покращенню результатів лікування таких хворих. Відмінності темпів рецидивування та особливості метастазування при МБ у хворих, яких лікували за стандартною схемою, свідчать про, ймовірно, різні причини виникнення цих новоутворень, їх біологічну гетерогенність, залежність від віку. Не зважаючи на певні теоретичні успіхи в обґрунтуванні лікування при МБ, основною причиною смерті хворих є метастази в межах ЦНС або продовжений ріст пухлини.

Отже, особливого значення набувають дослідження, що сприяють оцінці прогностичного значення різних структурно-біологічних особливостей МБ.

Розподіл МБ за гістологічним підтипом та молекулярними особливостями дозволяє більш коректно стандартизувати випадки МБ за групами ризику і, раціоналізувати лікування, збільшити його ефективність, мінімізувати побічні реакції, що створює передумови для розробки нових терапевтичних стратегій. Можливо, що при інтегральній оцінці факторів з'явиться можливість прогнозування (на основі виявлення та врахування даних клінічних, патоморфологічних та молекулярних факторів), яка забезпечить надійні критерії обґрунтування тактики, термінів, видів та поєднань складових

комбінованого лікування при МБ із забезпеченням високої якості життя в післяопераційному періоді.

Прогнозування перебігу захворювання при МБ лише на підставі клінічних даних неможливе, цього замало для визначення індивідуалізованої тактики лікування, прогнозування ризику продовженого росту та метастазування МБ, а також розуміння етіології та механізмів розвитку цих пухлин.

Вивчення гістологічних, цитологічних і молекулярних особливостей МБ дозволяє більш коректно стандартизувати клінічні спостереження за групами ризику, оптимізувати лікування, збільшити його ефективність, мінімізувати побічні реакції, що створює передумови для розробки нових стратегій лікування, визначення строків і поєднань складових комбінованого лікування при МБ, забезпечення прийнятної якості життя хворих у післяопераційному періоді.

Проаналізовані гістологічні особливості МБ у 197 дорослих і 39 дітей віком від 6 до 9 років, оперованих в Інституті період 1988 р по 2013 р.

Матеріал біопсії одразу після доставки у відділення нейропатоморфології фіксували у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну впродовж 12–24 год при температурі +4°C. Після фіксації матеріал заливали у парафін. Мікротомні зрізи товщиною 5 мкм переносили на предметні скельця, забарвлювали гематоксилином і еозином. Результати оцінювали, порівнюючи отримані препарати з еталонними, позитивним і негативним контролем, відбирали фрагменти тканини для подальшого гістохімічного та ІГХ досліджень.

Для електронно-мікроскопічного дослідження використовували фрагменти тканини пухлини розміром 1×1 мм³, які фіксували у суміші 4% розчину параформальдегіду, 2,5% розчину глутаральдегіду і 4% розчину сахарози на 0,1 молярному фосфатному буфері (рН=7,4) з подальшою дофіксацією у 1% розчині чотириокису осмію.

Гістологічні препарати вивчали за допомогою апаратно-програмного комплексу для морфологічних досліджень клітин (мікроскоп біологічний, цифрова камера, програмний модуль для обробки та аналізу цифрових зображень (“Leica Microsystems CMS GmbH”, Німеччина). Морфометрія здійснена при збільшенні у 400 разів. Використовували основні діагностичні морфометричні ознаки (площа і периметр клітини та ядра, ядерно-цитоплазматичне співвідношення, коефіцієнт формоутворення). Дослідження проводили у 20 репрезентативних полях зору з стандартною рамкою для вимірювання.

При гістологічному дослідженні МБ враховували такі ознаки: наявність псевдорозеток Хомера–Райта, колонарних структур, блідих острівців, справжніх епендимарних розеток, гангліозних клітин, пучкових структур, переважання дрібноклітинного малодиференційованого типу будови, кількість мітозів, вираженість судинного рисунка, активація ендотелію судин, вогнища коліквацийного (пори гістіолізу) та коагуляційного некрозу, розростання сполучнотканининної стромы, інвазія у м'які оболонки ГМ, лімфоцитарна інфільтрація тканини пухлини. Вираженість зазначених ознак у тканині пухлині оцінювали напівкількісним методом: 0 — ознака відсутня, (+) — ознака виявлена в окремих полях зору, (++) — ознака виявлена у 50% полів зору, (+++) — у більш ніж 50% полів зору.

Гістологічний варіант пухлини визначали за здатністю її клітин до диференціювання згідно гістобіологічної класифікації. Виділяли класичну МБ, десмопластичну МБ, з гліальним, епендимарним, нейрональним диференціюванням, дрібноклітинний малодиференційований варіант пухлини. Належність МБ до певного типу вважали очевидною при вираженості ознаки 50% і більше (++ і +++).

МБ класичного типу утворені щільно розташованими дрібними клітинами з ядрами округлої, овальної або видовженої форми. Клітини пухлини формують солідні скупчення, серед яких визначаються псевдорозетки Хомера–Райта, утворені їх ядрами, розташованими у вигляді неправильного

кільця навколо безсудинного еозинофільного центру (переплетені цитоплазматичні відростки). Кількість мітозів у таких МБ незначна, некрози нехарактерні (рис. 3.1.1). Цитоплазма клітин пухлини нечітка, забарвлюється слабо, іноді один з полюсів клітини витягнутий у вигляді хвоста (морквоподібний). Кількість судин помірна. Судини переважно дрібні, розсіяні по всій тканині пухлини. Стінки більшості судин тонкі, просвіти неширокі, активацію ендотелію спостерігають рідко. Привертає увагу примітивна будова судин: їх стінка утворена одним шаром ендотеліальних клітин, вони нагадують капіляри. Сполучнотканинна строма при срібленні за Гоморі має вигляд ніжної волокнистої сітки, аргірофільні волокна також виявляють у стінках судин пухлини (рис. 3.1.2).

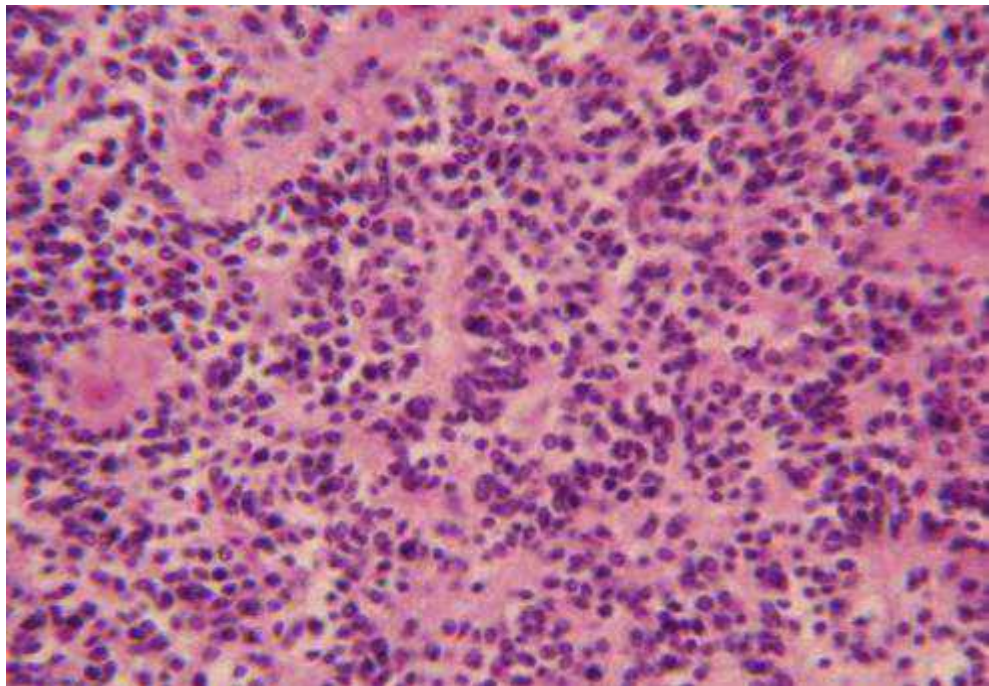


Рис. 3.1.1. Мікрофото. МБ класичної будови. Скупчення мономорфних клітин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36.×200.

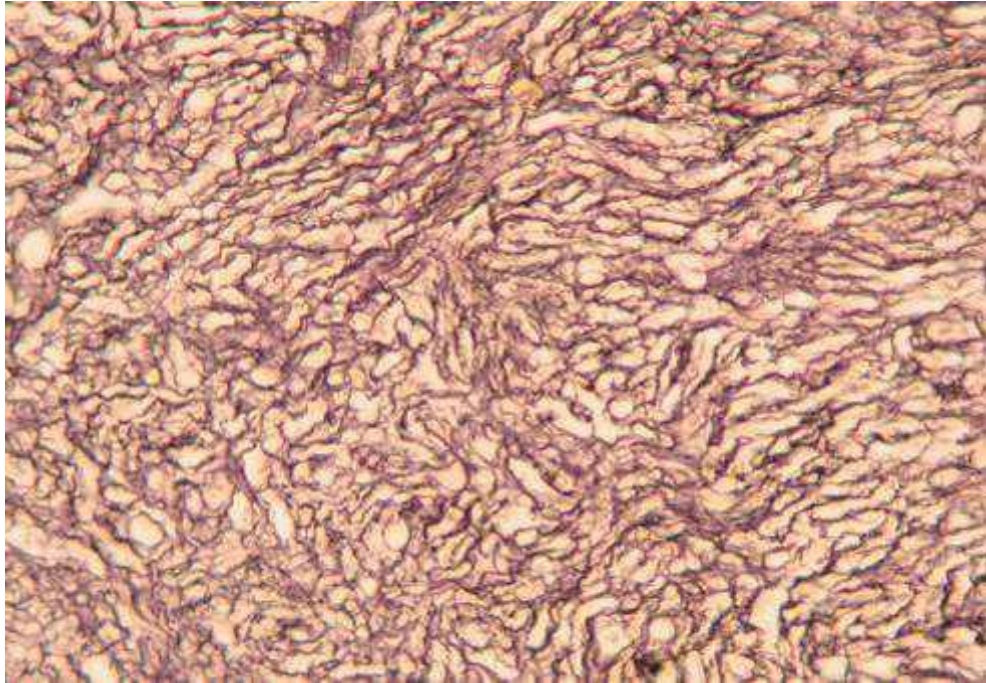


Рис. 3.1.2. Мікрофото. МБ класичної структури. Ніжна волокниста строма пухлини. Імпрегнація сріблом за Гоморі. Зб.×200.

МБ десмопластична характеризуються великою кількістю ретикулінових і колагенових волокон, тісно пов'язаних з стінками судин, інколи — з м'якими оболонками ГМ; ці волокна оточують окремі комплекси клітин пухлини або формують великі септи — тканина новоутворення може набувати почастованої будови. Іншою характерною рисою десмопластичної МБ є велика кількість вільних від волокон «блідих острівців» з менш щільним розташуванням клітин (рис. 3.1.3). При імпрегнації сріблом за Гоморі виявляють значні розростання сполучної тканини навколо скупчень клітин пухлини з формуванням характерної вузлуватої структури (рис. 3.1.4). Просвіт судин може бути розширеним, вони розташовані переважно по периферії вузликів, у волокнистій стромі.

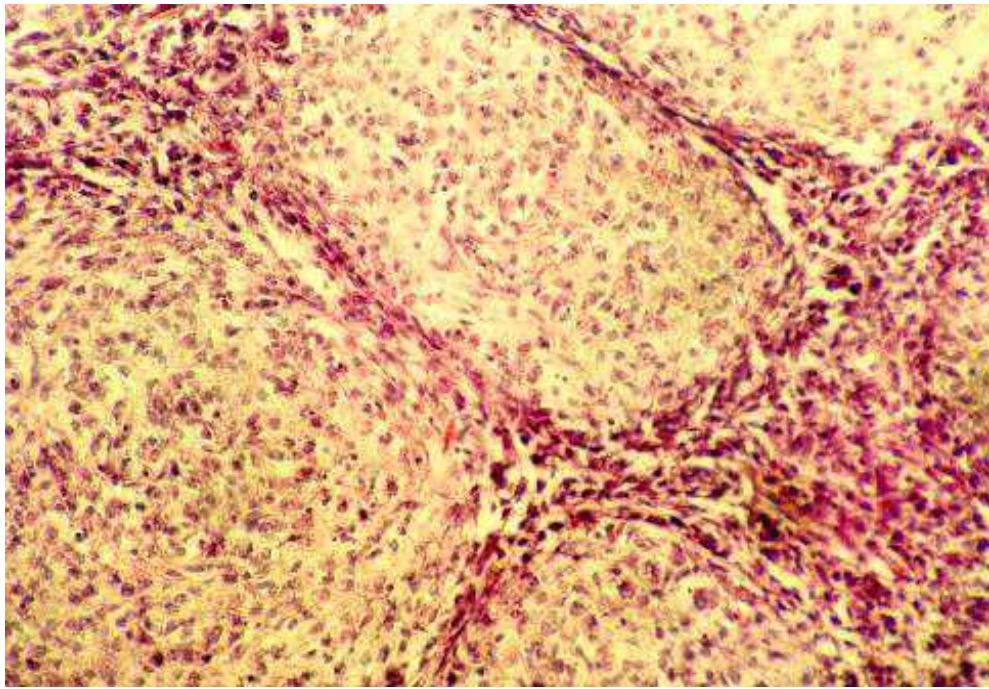


Рис. 3.1.3. Мікрофото. Десмопластична МБ. Часточкова будова пухлини. Зabarвлення гематоксиліном та пікрофуксином. 36.×180.

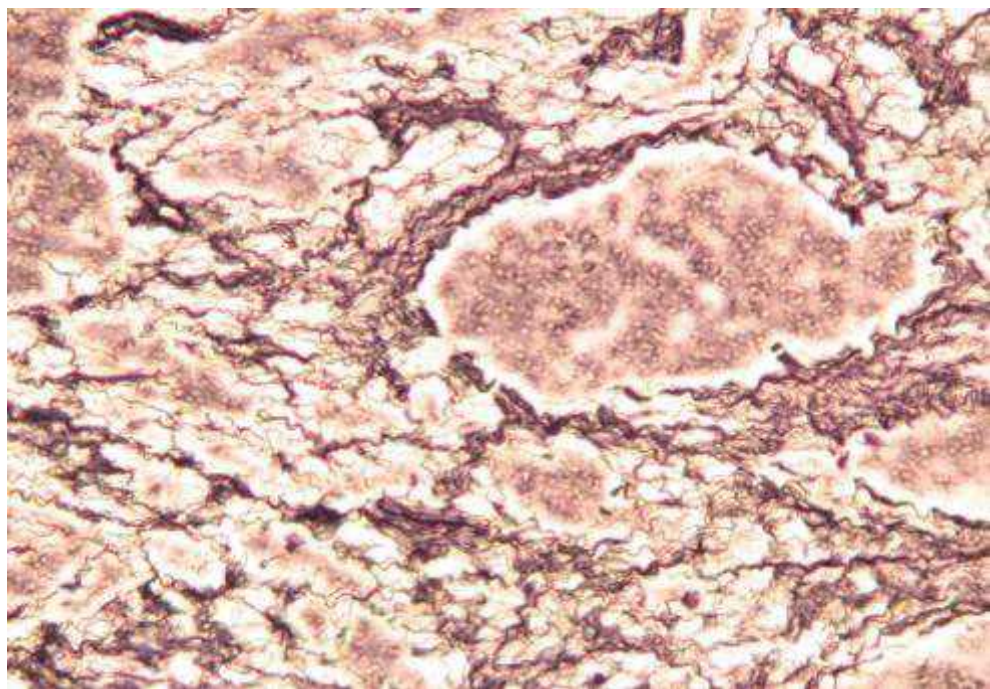


Рис. 3.1.4. Мікрофото. Десмопластична МБ. Вузлувата строма пухлини. Імпрегнація сріблом за Гоморі. 36.×100.

У більшості МБ виявляли ознаки диференціювання клітин: у 12 (6%) спостереженнях — епендимарного, у 13 (6,5%) — нейронального, у 23

(11,6%) — гліального. У 6 (3%) випадках визначені рідкісні форми МБ: у 3 — меланотична, у 2 — медулоліпобластома, в 1 — медуломіобластома.

У МБ з гліальним диференціюванням виявляли ділянки нещільного розташування клітин, серед них — клітини з тонким обідком цитоплазми і великим овальним ядром з незначним вмістом хроматину. В інших ділянках пухлини спостерігали клітини з чітко окресленими цитоплазматичними тілами і відростками, видовженими ядрами з помірним вмістом хроматину. Також виявляли поодинокі біполярні клітини. В окремих спостереженнях клітини пухлини нагадували концентричні структури або утворювали жмутки, які перепліталися у різних напрямках. В інших ділянках клітини пухлини утворювали правильні рядки і розетки. Мітозів зазвичай багато. Щільність судин помірна, у деяких з них відзначали активацію ендотелію (рис. 3.1.5).

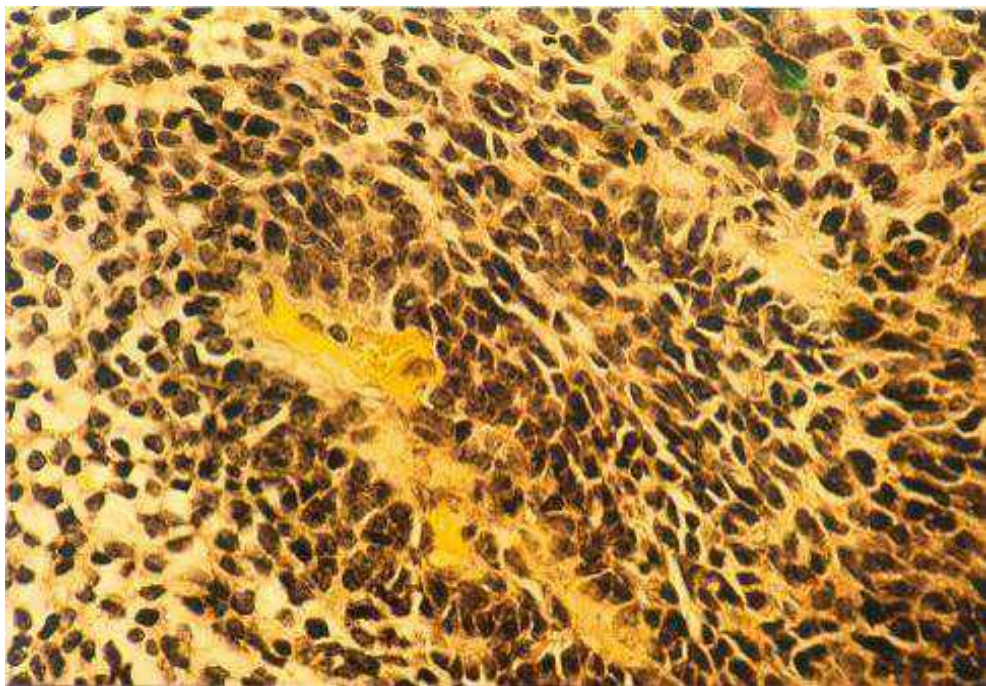


Рис. 3.1.5. Мікрофото. МБ з гліальним диференціюванням. Забарвлення гематоксиліном і пікрофуксином. Зб.×400.

У деяких МБ виявляли ділянки і значно вираженим клітинним поліморфізмом, характерним для ГБ. Поряд з клітинами середньої величини з ядрами округло-овальної неправильної форми траплялися великі і навіть велетенські багатоядерні клітини. В ділянках з клітинним поліморфізмом виявляли дрібні крововиливи і вогнища некрозу.

У МБ з епендимарним диференціюванням, крім ділянок, структура яких була характерною для МБ класичного типу, виявляли щільні скупчення помірно поліморфних клітин пухлини середньої величини, з гіперхромними ядрами, які утворювали жмутки та розетки. В усіх спостереженнях виявлені псевдорозетки з радіально розташованими клітинами пухлини, відростки яких були спрямовані до стінки судини. Виявлені поодинокі мітози. Судинний рисунок виражений помірно, у деяких судинах ендотелій активований (рис. 3.1.6).

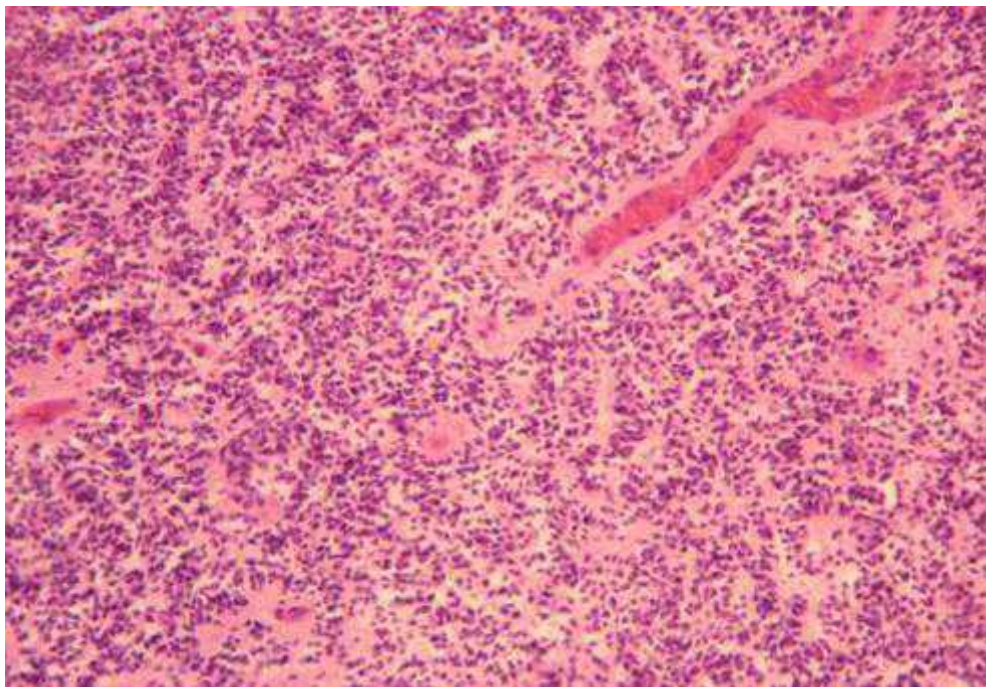


Рис. 3.1.6. Мікрофото. МБ з епендимарним диференціюванням. Псевдорозетки з радіально розташованими клітинами пухлини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36.×100.

У МБ з нейрональним диференціюванням поряд з ділянками, типовими для пухлини класичного типу, виявляли нервові клітини різного ступеня зрілості; кількість мітозів мінімальна. Виявляли клітини типу нейробластів з пухирцеподібним ядром і чітко окресленим ядерцем («риб'яче око»), а також клітини з сферичним ядром, чітко окресленим ядерцем з зернами хроматину, в деяких клітинах ядро оточене світлою перинуклеарною зоною. Виявляли ділянки МБ, в яких клітини були розташовані майже рівномірними рядами, у них відзначали відкладання кальцію, звапнення стінки судин.

Дрібноклітинний малодиференційований (анапластичний) тип МБ характеризується переважанням мономорфних дрібних клітин з гіперхромними монофазними ядрами округлої або овальної форми, невираженою цитоплазмою. Клітини розташовані безладно, іноді дрібні темні клітини згруповані у вигляді дрібних острівців або щільних тяжів, які межують з менш щільними ділянками. При досить однорідному складі іноді виявляються пікнотичні ядра, дегенеративно змінені пухлинні елементи, переважно навколо вогнищ некрозу; багато клітин у стані апоптозу. Мітози виявляють рідко. Судини переважно дрібні, судинний рисунок невиразний.

МБ класичного типу виявлені нами у 62,3% дорослих і 41,2% дітей, анапластична — відповідно у 13,9 і 23,75%, десмопластична — у 23,8% і 35%. Таким чином, у дорослих переважають МБ класичного типу, що збігається з даними більшості інших дослідників [6,8]. МБ у дітей і дорослих не відрізняються за гістологічною структурою, проте, вони різняться за молекулярними, генетичними і цитологічними ознаками, за допомогою яких дослідники намагаються прогнозувати перебіг захворювання, визначити ефективність лікування.

3.2. Дослідження проліферативної активності клітин медулобластом за індексом Ki-67 у дорослих і дітей.

Індекс Ki-67 — нуклеопротейн, що бере участь в усіх фазах клітинного циклу, це достовірний показник проліферативної активності різних клітин організму. Ми вивчили показники експресії Ki-67 в клітинах МБ для уточнення особливостей їх гістологічної структури у дорослих і дітей, прогностичного значення рівня проліферації клітин пухлини (рис. 3.2.1). Спостереження розподілені на дві групи: I група — 10 дітей — пацієнти молодше 17 років, оперовані з приводу МБ мозочка; II група — 16 дорослих — пацієнти віком 18 років і старше (табл. 3.2.1).

Експресію ядерного антигену Ki-67 спостерігали в усіх зразках МБ. Найбільше число позитивних ядер виявлене у ділянках пухлини з щільним розташуванням клітин, в той час як у «блідих острівцях» забарвлювалися лише окремі ядра.

Таблиця 3.2.1.

Індекс мічення Ki-67 клітин МБ у дорослих і дітей

Група хворих	Індекс мічення Ki-67, %		
	інтервал	медіана	M+m
I (діти)	14,7–31,9	25,7*	24,06±1,8
II (дорослі)	15,7–34,2	26,2	25,77±2,6

Примітка. * — відмінність показників недостовірна (p=0,59).

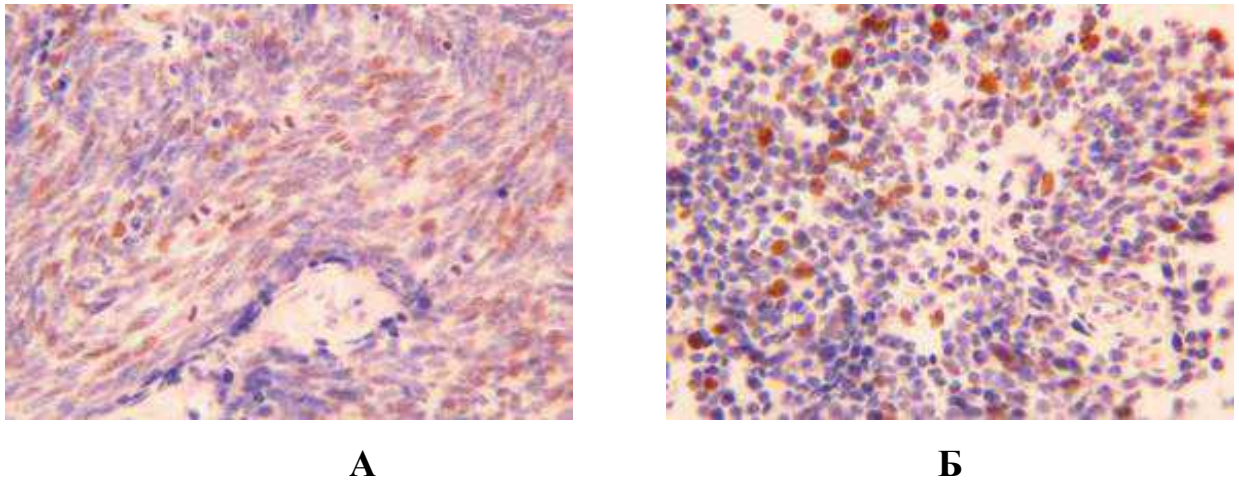


Рис. 3.2.1. Мікрофото. ІГХ визначення проліферуючих клітин МБ за допомогою антитіл проти Ki-67 антигену. А — МБ класичного типу: імунопозитивні клітини (28%) — забарвлення ядер проліферуючих клітин, численні мітози. 36×400 ; Б — десмопластична МБ: рідка клітинна щільність, 12% імунопозитивних проліферуючих клітин. 36×200 .

У МБ як дітей, так і дорослих часом виявляють невисокий індекс мічення Ki-67 (14–17% позитивних клітин), часом — більший (понад 30% позитивних клітин), середнє арифметичне показника в обох групах практично однакове — відповідно 24,06 і 24,66%, що не дозволяє використовувати індекс мічення Ki-67 для достовірного визначення морфологічних особливостей МБ у хворих різного віку. В той же час визначення індексу мічення Ki-67 у МБ дозволяє судити про проліферативну здатність їх клітин, так, виявлені нами показники у дітей і дорослих різнилися майже вдвічі. Визначення індексу мічення Ki-67 у тканині пухлини після першої операції можна використовувати для прогнозування результатів лікування конкретного пацієнта, строків виникнення рецидиву та продовженого росту МБ.

При порівнянні індивідуальних показників індексу мічення Ki-67 на матеріалі первинних пухлин в обох групах, на перший погляд, складається враження, що вищі показники пов'язані з раннім продовженим ростом

пухлини. Індекс мічення Ki-67 у МБ після повторних хірургічних втручань з приводу їх продовженого росту значно коливався (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2.

Індекс мічення Ki-67 клітин МБ за їх продовженого росту у дорослих і дітей.

Група хворих	Індекс мічення Ki-67,%		
	інтервал	медіана	M+m
I (діти)	19,1–41,6	33,1	30,84±2,6*
II (дорослі)	21,5–40,2	34,8	31,99±2,7

Примітка. * — відмінність показників недостовірна ($p=0,55$).

Так у дітей він коливався від 19,1 % до 41,6 % ,а у дорослих відповідно від 21,5% до 40,2%, що показує двохразову відмінність у величині індексу, що внаслідок різної проліферативної здатності клітин медулобластом.

Відмінності індексу мічення Ki-67 на матеріалі першої та повторної операцій у дітей і дорослих недостовірні. Але при зіставленні динаміки індексу мічення Ki-67 в індивідуальних спостереженнях МБ, на матеріалі повторної операції проліферативна активність дещо збільшується. У деяких спостереженнях продовженого росту МБ відзначали певне зменшення індексу мічення Ki-67, що може бути зумовлене зниженням проліферативної активності у відповідь на проведену антибластичну терапію.

Отже, вивчення гістологічних особливостей медулобластом дорослих показало їх морфологічну подібність до пухлин дитячого віку, а відмінності між ними були пов'язані лише з незначною різницею у частоті медулобластом певного гістологічного типу, так, наприклад, у дорослих класичний варіант зустрічався у 62,3% у дитячих – у 41% спостережень. Пухлини дорослих та дітей мали різні по величині індекси мічення Ki-67, які вказують на різну проліферативну активність клітин окремих пухлин незалежно від віку.

пацієнтів що дозволяє використовувати цей показник для характеристики медулобластом як після першої так і повторної операції .

3.3. Морфометричні та ультраструктурні дослідження медулобластом дорослих і дітей

Незважаючи на нечисленні та суперечливі дані літератури щодо морфометрії МБ, каріометрія клітин пухлини (площа, периметр, максимальний діаметр ядра) шляхом мультифакторного дискримінантного аналізу дозволяють провести диференційну діагностику між МБ і нейробластомою, пухлиною Ервінга, лімфобластною та лімфоцитарною лімфомами .

Морфометричний аналіз підтверджує, що розміри і варіабельність ядер є суттєвими при розподілі МБ на класичну, анапластичну та крупноклітинну, проте, більшість авторів не вважають ці показники самостійними прогностичними критеріями. Крім того, класичним і анапластичним МБ притаманні достовірно відмінні мітотичні індекси, що корелюють з середньою тривалістю життя хворих.

В доступній нам літературі не знайдено публікацій, присвячених особливостям ультраструктури клітин МБ лоросих, хоча вважається, що злоякісні пухлини характеризуються клітинною атипією, яку легко можна виявити під час електронно-мікроскопічного дослідження. Ядро клітин пухлини зазвичай має звивисті контури, багате на хроматин, який розподілений у каріоплазмі нерівномірно. Як правило, у ядрі виявляють кілька ядерець; ядерно-ядерцеві співвідношення порушуються. З'являються атипові мітози. Змінюються форма і розміри ультраструктур, вони нерівномірно розподілені по цитоплазмі (ультраструктурний атипізм). Ознакою атипії клітин пухлини є численні і тісні мембранні контакти ядра, мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму, а також ядерно-цитоплазматичні співвідношення на користь ядра, а не цитоплазми.

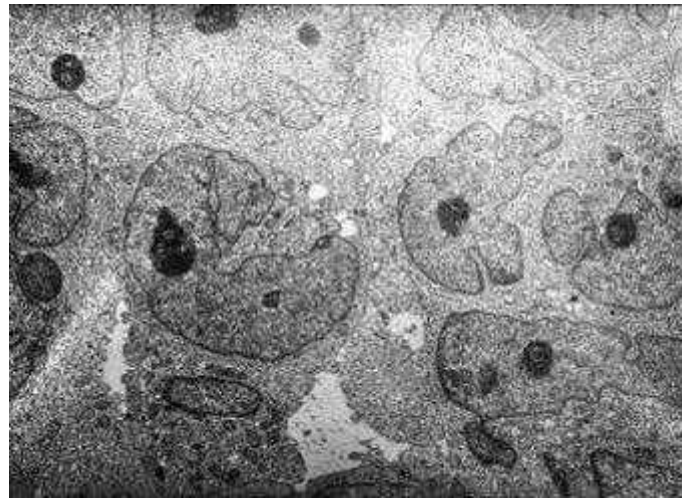
Клітини МБ не мають характерних ультраструктурних тканинспецифічних ознак. Для встановлення точного діагнозу необхідні додаткові дані. Зокрема, МБ слід диференціювати від низькодиференційованої саркоми, яка також виникає в ділянці мозочка і ультраструктурно відрізняється від МБ наявністю в міжклітинних просторах численних колагенових волокон [16] і відсутністю спеціалізованих міжклітинних контактів. Слід зазначити, що виявлені спеціалізовані міжклітинні контакти достовірно вказують на походження МБ з ембріональної нейроепітеліальної тканини.

При проростанні МБ у IV шлуночок ГМ слід проводити диференційну діагностику з епендимомою (безсудинні розетки характерні для МБ, периваскулярні — для епендимом).

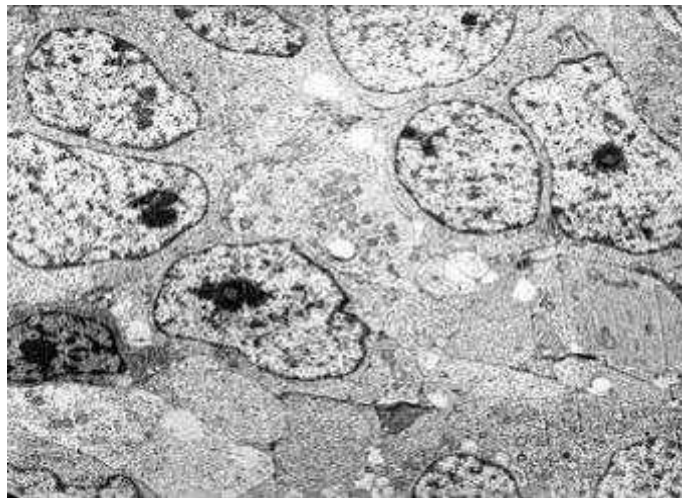
Спостерігають спрощення ультраструктури клітин високозлоякісних пухлин порівняно з такою менш злоякісних новоутворень і вихідної тканини, зокрема, зменшуються кількість і розміри мітохондрій, вкорочуються кристи, зменшується їх кількість [293]. Вікові особливості МБ на субклітинному та електронно-мікроскопічному рівні вивчені недостатньо.

За даними нашого дослідження, тканина МБ дорослих на напівтонких зрізах представлена численними ізоморфними (невеликими світлими і дещо меншими темними) низькодиференційованими клітинами. Клітини пухлини частіше розташовані рівномірно і хаотично, проте, подекуди виявляли вогнища паралельного або радіарного розташування клітин по відношенню одна до одної.

Клітини МБ, як правило, округлої або полігональної форми, ядерно-цитоплазматичне співвідношення зміщене у бік ядра, що характерне для низькодиференційованих і злоякісних пухлин (рис. 3.3.1). Ядерно-цитоплазматичне співвідношення у МБ дітей і дорослих виявилось практично однаковим (відповідно 1,7 і 1,75), що, на нашу думку може свідчити про знаходження клітин приблизно на однаковому щаблі диференціювання в обох групах (рис. 3.3.2).



А



Б

В

Рис. 3.3.1. Електронограма. А — МБ класичного типу з ознаками нейронального диференціювання (Хворий П., (трьох років); загальний вигляд клітин і їх відростків. 36.×2800. Б — МБ класичного типу з ознаками нейронального диференціювання (Хворий Ю., 42 років); клітини мають дендритоподібні відростки, що містять мікротрубочки.

**36.×2800. В — МБ той самий хворий. Багатолопатеве ядро клітини.
36.×8000.**

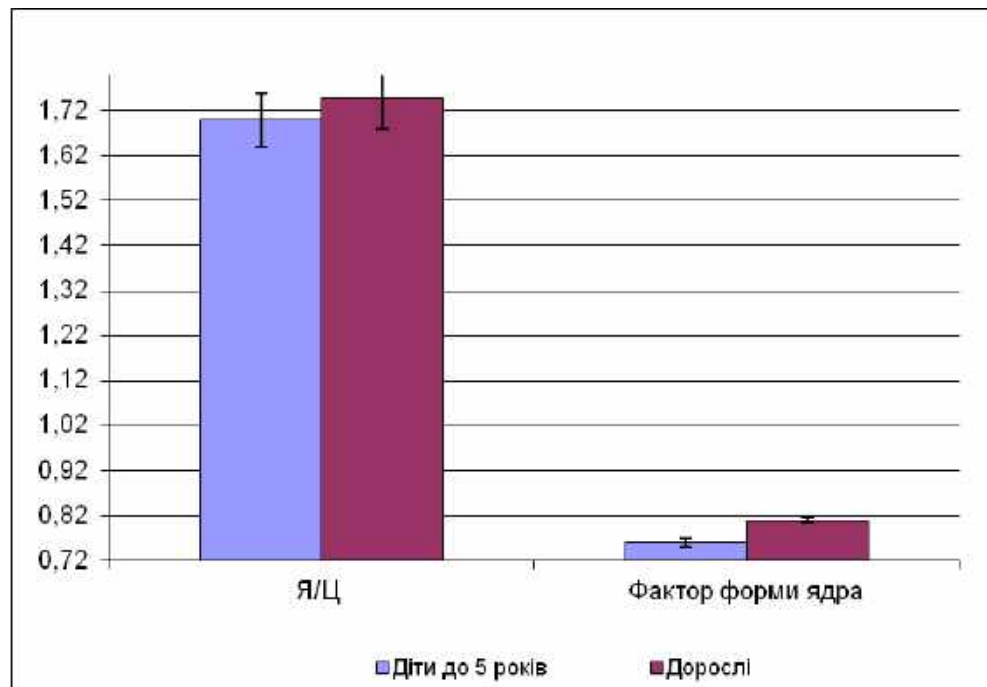


Рис. 3.3.2. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення і фактор форми ядра клітин МБ у дітей і дорослих.

На ультратонких зрізах виявляли профілі ядер клітин пухлини неправильної овальної, рідше округлої або «географічної» форми з численними глибокими інвагінаціями ядерної оболонки — збільшення корисної площі поверхні ядра характеризує посилення ядерно-цитоплазматичних взаємодій у клітинах високо злоякісних новоутворень. Іноді внаслідок проходження площини зрізу через таку інвагінацію відзначали ефект «псевдофрагментації» ядра клітини, частот навіть у сусідніх клітинах форма ядер різна. Для об'єктивізації характеристики форми ядер застосований морфометричний критерій «фактор форми» (він характеризує те, наскільки форма ядра наближена до апроксимуючого еліпса). Оскільки в процесі пухлинної трансформації поперечні зрізи багатьох ядер втрачають правильну округло-овальну форму через численні інвагінації, ми вважаємо, що фактор форми опосередковано відображає один з аспектів анаплазії ядра. За даними морфометричного дослідження, фактор форми зменшується у 1,1

разу у дітей порівняно з таким у дорослих, що може свідчити про збільшення анаплазії МБ у дітей молодшого віку; це узгоджується з даними літератури про більш тяжкий перебіг захворювання у дітей. У дітей молодшого віку площа ядра і всієї клітини пухлини у 1,7 разу перевищувала ці показники у дорослих (табл.3.3.3).

Таблиця 3.3.3.

Морфометрична характеристика клітин МБ у хворих різного віку за даними світлової мікроскопії, (M±m)

Показник	Значення показника (n=90), M±m у хворих віком	
	молодше 5 років	старше 20 років
Площа ядра, мкм ²	81,7±2,7	47,8±1,4*
Площа цитоплазми, мкм ²	48,8±1,7	29,5±1,3*
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення, мкм ²	1,7±0,06	1,75± 0,07
Фактор форми; коефіцієнт мкм ²	0,76±0,01	0,81±0,006*
Кількість ядерць	3,9±0,15	2,9±0,16*
Нуклеоллярний коефіцієнт (ядро з ядерцями/ядро без ядерць)	2,63	2,3

Примітка. * — відмінності показників достовірні (p<0,05).

Розподіл клітин МБ за площею перерізу ядер у дітей і дорослих наведений на рис. 3.3.3, 3.3.4.

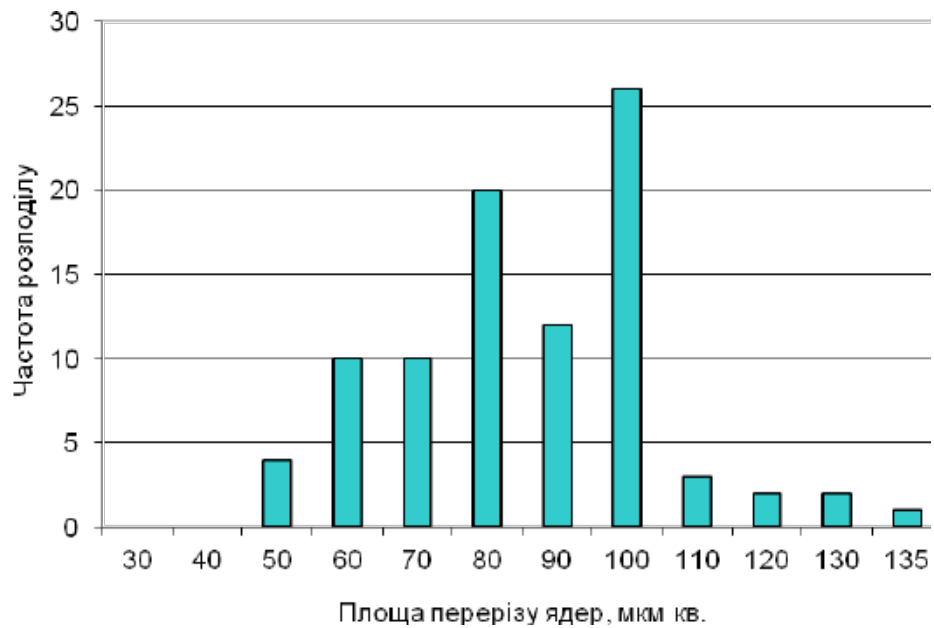


Рис. 3.3.3. Гістограма частотного розподілу за площею перерізу ядер клітин МБ у дітей.

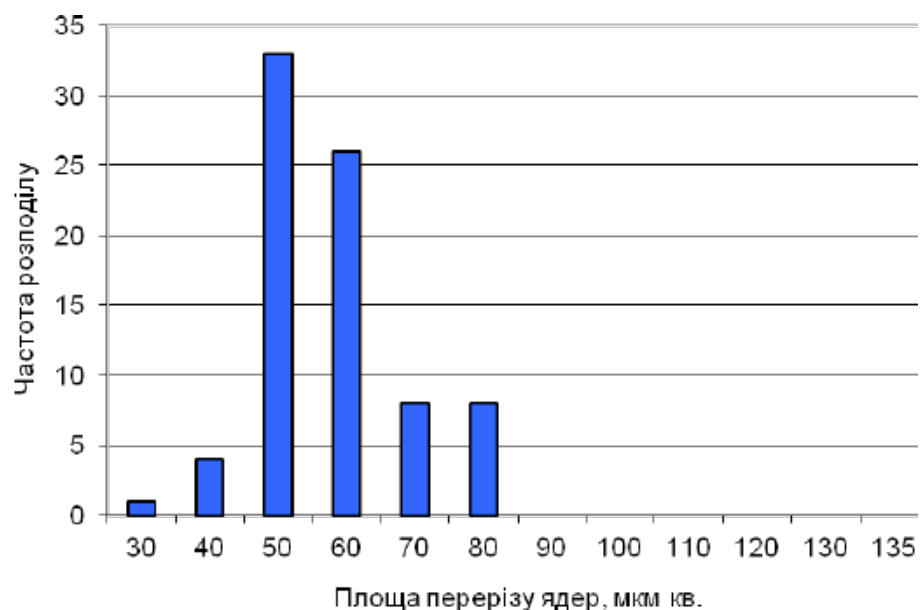


Рис. 3.3.4. Гістограма частотного розподілу за площею перерізу ядер клітин МБ у дорослих.

У незмінених клітинах більшість ядер (майже 70%) приблизно однакового розміру, характерного для певного етапу фізіологічного циклу; ядра клітин МБ у дітей відрізняються за розмірами від ядер клітин МБ у

дорослих. За даними гістограм у дітей, на відміну від дорослих, відзначали тенденцією до збільшення середньої площі перерізу ядер при збільшенні граничних меж розкиду цього показника, що свідчить про більшу злякисність МБ у дітей.

Хроматин в ядрах клітин МБ представлений як гетеро- так і еухроматином, рівномірно розподіленим по каріоплазмі, проте, останній значно переважає, за даними морфометричного дослідження, у дітей і дорослих вміст еухроматину в каріоплазмі достовірно не відрізняється і становить відповідно 27,1 і 26,4%. В ядрі виявляють гранули рибонуклеопротейду: інтер- і перихроматинові, що формують хаотичні скупчення. Гетерохроматин ядер більшості клітин МБ дескомплексований, утворює нерівномірні скупчення у просвітленій каріоплазмі, подекуди ущільнюючись поблизу внутрішньої ядерної мембрани. Вміст гетерохроматину у ядрах клітин МБ дітей і дорослих достовірно не відрізнявся, ймовірно, через значний розкид значень стандартного відхилення (табл. 3.3.4).

Ступінь деконденсації хромосомного матеріалу (деконденсований хроматин — еухроматин, конденсований — гетерохроматин) в інтерфазі може відображати функціональне навантаження на цю структуру. Більш дифузний розподіл хроматину в інтерфазному ядрі свідчить про більш інтенсивні синтетичні процеси. За даними нашого дослідження, рівень білоксинтетичних процесів у клітинах МБ хворих різного віку приблизно однаковий, про що свідчить індекс співвідношення еухроматин/гетерохроматин, який у дітей становить 2,55, у дорослих — 2,14.

Мітози в клітинах МБ і початкові ознаки апоптозу, маргінальна конденсація хроматину за даними електронної мікроскопії не виявлені.

Таблиця 3.3.4. Морфометрична характеристика ультраструктурних елементів ядра і цитоплазми клітин МБ за даними електронної мікроскопії у хворих різного віку ($M \pm m$).

Показник		Вік хворих	
		діти	дорослі
Мітохондрії (n=150)	діаметр поздовжній, мкм	0,54±0,015	0,46±0,01*
	діаметр поперечний, мкм	0,39±0,01	0,32±0,008*
Хроматин (n=30)	еухроматин, %	27,1 ± 0,97	26,4 ± 0,9
	гетерохроматин, %	13,6 ± 1,9	15,8 ± 1,7
	коефіцієнт співвідношення еухроматин/гетеро- хроматин	2,55±0,3	2,14±0,2
Спеціалізовані контакти (n=10)	довжина контакту, мкм	0,11±0,036	0,18±0,036
	ширина контакту, мкм	0,024±0,002	0,017±0,001*
	довжина контактуючих мембран, індекс	0,17±0,03	0,24±0,03
Співвідно- шення ядерць різних типів (n=30)	кільцеві, %	16,7±7,9	18,8±7,3
	компактні, %	38,1±9,1	55,2±9,7
	нуклеолонемні, %	45,2±9,7	26,0±8,2

Примітка. *— відмінності показників між групами достовірні ($p < 0,05$).

Процес диференціювання клітин пов'язаний зі зміною активності специфічних генів і білок синтетичного апарату, одним з елементів якого є

ядерце, де відбувається транскрипція РНК. В процесі диференціювання нервової клітини кількість ядерць в її ядрі зменшується, а їх розміри — збільшуються [295]. З іншого боку, середня кількість ядерць у популяції проліферуючих клітин корелює з інтенсивністю проліферації [294]. З цієї точки зору цікавим є дослідження стану ядерць у ядрах клітин МБ у хворих різного віку.

За даними морфометричного дослідження відзначали достовірне зменшення (в 1,3 разу) кількості ядерць в ядрах клітин МБ у дорослих порівняно з такою у дітей; показники становили відповідно $2,9 \pm 0,16$ і $3,9 \pm 0,15$ [293]. Нуклеоларний коефіцієнт у дорослих перевищував такий у дітей у 1,1 разу (відповідно 2,63 і 2,3), що, ймовірно, вказує на дещо нижчу проліферативну активність клітин МБ у дорослих хворих (рис. 3.3.5).

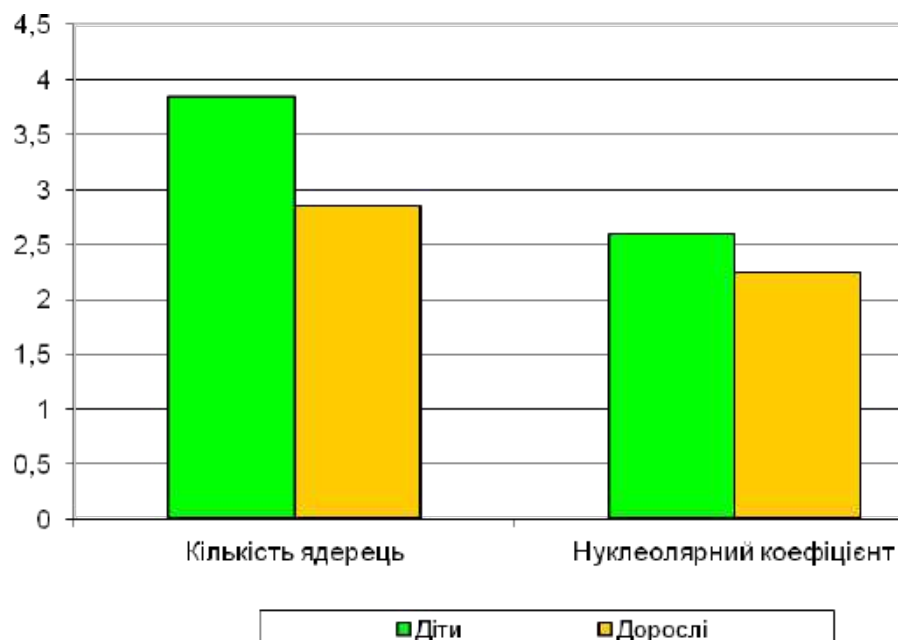
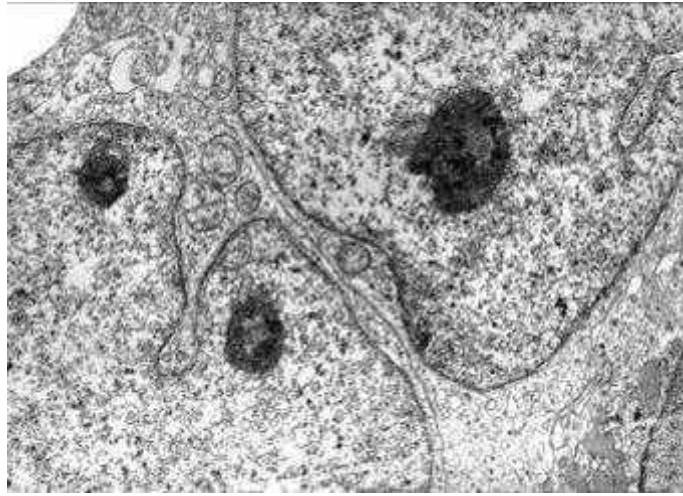


Рис. 3.3.5. Морфометрична характеристика ядерць в ядрах клітин МБ у хворих різного віку.

За даними електронної мікроскопії, у ядрах клітин МБ виявляли 1–4 ядерць різних типів (кільцеві, компактні), проте, не спостерігали більше

одного ядерця нуклеолонемної форми. У нуклеолонемному ядерці гранулярний компонент, іноді разом з фібрилярним, формує тяжі (рис. 3.3.6).



А

Б

Рис. 3.3.6. Електронограма. А — МБ класичного типу з ознаками нейронального диференціювання (Хворий П., трьох років); в ядрах клітин — пери- та інтерхроматинові гланули, сегреговані ядерця. 3б.×8000.

Б — МБ класичного типу з ознаками нейронального диференціювання (Хворий Ю., 42 років); в ядрі — дисконплексований гетерохроматин. 4 ядерця при мембранній локалізації. 3б.×8000.

Така будова характерна для активних ядерць більшості еукаріот. В компактному ядерці гранулярний і фібрилярний компонент перемішані і, як правило, занурені у навколоядерцевий конденсований хроматин. Часто таке ядерце розташоване примембранно або пов'язане з ядерною оболонкою за допомогою конденсованого хроматину. Ядерця такого типу переважають у ядрах низькоференційованих клітин. Нечисленні кільцевидні ядерця мають вигляд сегрегованих форм з одним досить великим фібрилярним центром і електронно-щільною периферичною частиною, побудованою здебільшого з фібрил без нуклеолонем. По периферії кільцеподібних ядерць виявляють скупчення навколоядерцевого конденсованого хроматину. Компактна та кільцеподібна структура ядерця вказує на нижчий, порівняно з клітинами, що мають нуклеолонемне ядерце, рівень транскрипційної активності рибосомальних генів [295, 296]. Процес сегрегації ядерцевих компонентів нуклеолемних ядерць — одна з основних морфологічних ознак перебудови ядерцевого апарату під час малігнізації, його вираженість відповідає ступеню анаплазії пухлини. Вміст кільцеподібних ядерць у ядрах клітин МБ у дітей і дорослих практично однаковий (відповідно 16,7 і 18,8%).

Цитоплазма. Наявність певних ультраструктурних елементів у цитоплазмі клітин МБ, за даними електронної мікроскопії, дозволяє визначати їх диференціювання. За нашими даними, для недиференційованих клітин пухлини характерний тонкий, подекуди нерівномірно розширений, обідок цитоплазми, що оточує ядро. Цитоплазма темна, осмієфільна або дещо просвітлена, містить численні рибосоми, полісоми, декілька невеликих округло-овальних мітохондрій з темним осмієфільним матриксом і щільними кристами. Ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) слабо розвинений, він представлений незначною кількістю невеликих цистерн шорсткого ендоплазматичного ретикулуму або везикулярних структур агранулярного ретикулуму. Комплекс Гольджі не виявлений.

Фібрилярні структури (інтермедіальні філаменти), які іноді виявляють у перинуклеарній цитоплазмі та відростках клітин пухлини, є ознакою їх

астрогліального диференціювання. Проте, ці клітини слід диференціювати від реактивних астроцитів, які можуть проростати у тканину МБ. Часто в цитоплазмі і дендритоподібних відростках клітин МБ за даними електронної мікроскопії виявляють мікротрубочки, які є маркером їх нейробластного/нейронального диференціювання. У цитоплазмі таких «диференційованих» клітин, крім зазначених цитоплазматичних структур, виявляють фрагменти апарату Гольджі, який може бути представлений комплексом видовжених цистерн і невеликих везикул. Іноді поблизу комплексу Гольджі спостерігають лізосоми та центріолі. Центріолі — центр організації мітотичного веретена, кожна з центріолей складається з 9 триплетів мікротрубочок, бере участь у поділі клітини. Протягом S-фази клітинного циклу кількість центріолей подвоюється. Новоутворена центріоль розміщена під прямим кутом до первинної.

За даними електронної мікроскопії зразків МБ, клітини пухлини були невеликого розміру, полігональні, порядок їх розташування — випадковий. Міжклітинні простори різні: від досить широких до незначних, зазвичай вони практично відсутні. Добре виражені міжклітинні простори заповнені аморфною речовиною або пучковими структурами (колагеновими волокнами на тлі ніжного фібрилярного матеріалу). Більша частина клітин характеризувалась переваженням об'єму ядра над цитоплазмою. Ядро неправильної або округлої форми містило хроматин, який найчастіше був розміщений рівномірно, незначно ущільнюючись у внутрішньої ядерної мембрани. В ряді клітин біло відмічено порівняно високий вміст хроматину. Разом з тим ми спостерігали досить великі округлі клітини пухлини, що мали бобоподібне ядро та глибокі інвагінації ядерної оболонки. Невеликі ядерця містили ущільнені скупчення гранулярного матеріалу. Найчастіше вони розміщувалися поблизу внутрішньої ядерної оболонки. Клітини МБ містили невелику кількість цитоплазми, яка мала осміофільний вигляд. Цитоплазма клітин збіднена органелами. Мітохондрій, як правило, небагато, вони мають неправильну овальну, рідше витянуту форму. Зустрічаються клітини

пухлини, цитоплазма яких багата на невеликі округлі мітохондрії з осміофільним мітохондріальним матриксом, в якому розрізняються пристіночні вкорочені кристи. Спостерігаються звичайно невеликі цистерни гранулярного ЕПР з осміофільним вмістом в порожнинах щілеподібних цистерн. Цистерни агранулярного ЕПР зустрічаються також рідко. В цитоплазмі клітин пухлини досить багато вільних рибосом, іноді рибосомальні гранули зібрані в полісоми. Комплекс Гольджі представлений декількома вузькими щілеподібними цистернами, що щільно прилягають одна до одної та невеликою кількістю невеликих округлих осміофільних везикул. Лізосоми так, як і комплекс Гольджі в цитоплазмі клітин пухлини зустрічаються досить рідко. Кількісно відрізнялись і площі міжклітинних контактів – від великої кількості контактуючих плазматичних мембран при щільному розміщенні клітин, до невеликих полів контактів при рідкому розміщенні клітин .

Кількість мітохондрій у клітинах МБ суттєво варіює. У цитоплазмі клітин МБ з ознаками нейробластного диференціювання, як правило, виявляють декілька невеликих округло-овальних мітохондрій з просвітленим матриксом і частково фрагментованими кристами. Поздовжній і поперечний діаметр мітохондріальних профілів, за даними морфометричного дослідження, у дітей у 1,2 разу більше, ніж у дорослих (рис. 3.3.7). При цьому більшість мітохондрій у клітинах МБ у дітей видаються набряклими, проте, ступінь набряку органел в обох групах не відрізняється, тобто, збільшення розмірів мітохондріальних профілів у I групі, на нашу думку, не пов'язане з їх набуханням. У дітей відзначена певна кореляція розмірів мітохондрій з розмірами клітин пухлини.

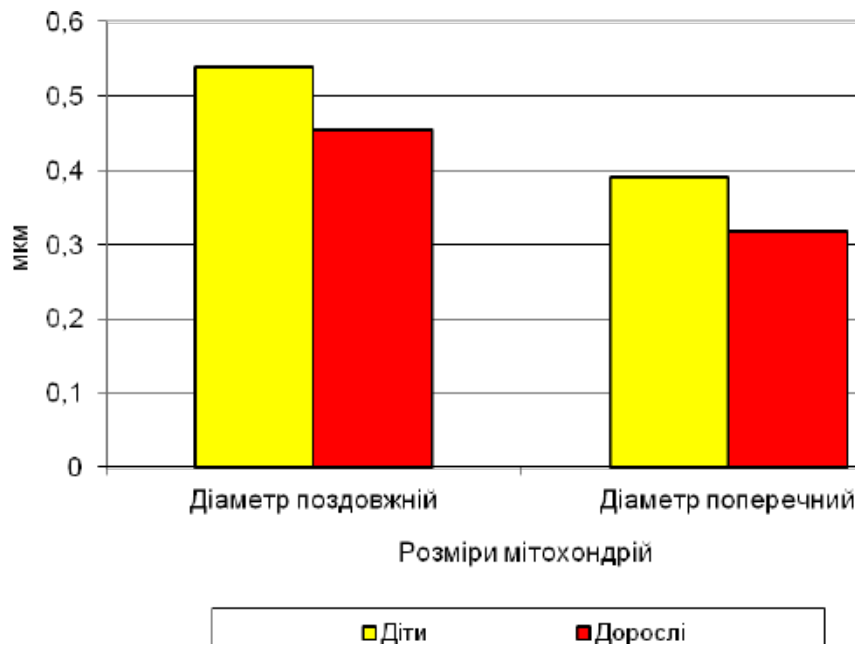


Рис. 3.3.7. Розміри мітохондрій у клітинах МБ у хворих різного віку.

Питання метастазування МБ є одним з найбільш складних. Останніми роками завдяки успіхам молекулярної біології доведена роль міжклітинних контактів у канцерогенезі. Щілинні міжклітинні контакти — одна з форм міжклітинної взаємодії, ключовий структурно-функціональний чинник у підтриманні гомеостазу. Щілинні міжклітинні контакти вперше виявлені під час електронної мікроскопії, мають вигляд ділянок щільного співвідношення мембран сусідніх клітин з простором між ними не більше 0,2 нм. Автономний ріст пухлини характеризується відсутністю контролю за проліферацією і диференціюванням клітин ураженого органа. Інвазія пухлини як відомо відбувається у 3 фази, які супроводжуються певними генетичними перебудовами. Перша фаза інвазії пухлини — ослаблення міжклітинних контактів. Ми аналізували міжклітинні контакти у МБ у хворих різного віку: у дітей довжина спеціалізованого контакту становила $0,11 \pm 0,036$ мкм, ширина — $0,024 \pm 0,002$ мкм, у дорослих — відповідно $0,18 \pm 0,036$ і $0,017 \pm 0,03$ мкм ($p < 0,05$).

Таким чином, зіставлення даних літератури з результатами нашого дослідження дозволяють припустити, що у метастазуванні пухлини важливу

роль відіграють міжклітинні контакти: чим менша площа контакту, тим швидше інвазія новоутворення. Для клітин недиференційованих МБ характерні різке зміщення ядерно-цитоплазматичного співвідношення у бік ядра, наявність у ньому компактних ядерців, локалізованих примембранно, відсутність у цитоплазмі комплексу Гольджі.

За результатами гістологічних досліджень та електронної мікроскопії зразків МБ дітей і дорослих встановлено, що переважну більшість спостережень складають пухлини класичного типу.

Експресія Ki-67 відрізнялася у зразках тканини пухлини різних хворих у 2–3 рази, незалежно від їх віку, що унеможливує використання цього показника для визначення вікових біологічних особливостей МБ. В той же час, результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати індекс Ki-67 для визначення проліферативного потенціалу конкретної пухлини, вибору методів подальшого лікування.

За даними морфометричного дослідження напівтонких зрізів виявлені відмінності МБ у дітей і дорослих. За даними морфометричного дослідження напівтонких зрізів виявлені відмінності МБ у дітей і дорослих. Так, у дітей і дорослих при МБ значення коефіцієнта ядерно-цитоплазматичного співвідношення виявилися практично однаковими: це вказує на те, що клітини МБ у пацієнтів різного віку в певній мірі подібні.

Наявність чи відсутність в цитоплазмі пухлинних клітин та відростків медулобластом інтермедіальних філаментів та мікротрубочок є маркером відповідно гліальної або нейробластної/нейрональної диференціації мультипотентних клітин медулобластом на ультраструктурному рівні.

Для недиференційованих клітин медулобластом є характерним різке зміщення ядерно-цитоплазматичного співвідношення в бік ядра з переважанням в останньому компактних ядерців примембранної локалізації та відсутністю в цитоплазмі комплексу Гольджі.

Морфометричне дослідження на напівтонких зрізах засвідчило, що

величина коефіцієнта ядерно-цитоплазматичного співвідношення для дитячої та дорослої груп обстеження може вказувати на знаходження клітин МБ в обох групах обстеження приблизно на однаковому щаблі диференціювання.

В той же час достовірне зниження коефіцієнта фактора форми в дитячій групі спостереження (діти до 5 років) в порівнянні з дорослими може вказувати на посилення анаплазії ядер клітин медулобластом у дітей молодшого віку.

Порівняння гістограм частотного розподілу для дітей та дорослих вказало на чітке зміщення каріограми в медулобластомах дітей віком до 5 років вправо з тенденцією до збільшення середньої площі перерізу ядер при розширенні граничних меж розкиду цього показника, що теж може свідчити про посилення атипії ядер клітин МБ у дітей молодшого віку.

Морфометричне дослідження та аналіз на ультратонких зрізах засвідчили, що спираючись на практично однакові показники вмісту еухроматину/гетерохроматину в інтерфазному ядрі клітин МБ, можна припустити, що білоксинтетичні процеси у клітинах пухлини хворих різного віку знаходяться на одному рівні. В той же час, відзначали достовірне (в 1,3 разу) зменшення кількості ядерць у ядрах клітин МБ у дорослих порівняно з такою у дітей, що, ймовірно, вказує на дещо нижчу проліферативну активність клітин МБ у дорослих пацієнтів.

Спостерігали чітку кореляцію розмірів мітохондрій і клітин пухлини: у дітей ці показники збільшувалися відповідно у 1,2 і 1,7 разу порівняно з групою дорослих хворих. Ширина рудиментарних спеціалізованих контактів клітин МБ типу *zonula adherens* у дітей достовірно (в 1,4 разу) перевищувала таку у дорослих, що певним чином може бути пов'язане з інвазивністю цих новоутворень.

Також встановлено, що довжина спеціалізованого міжклітинного контакту у МБ дітей менша, а ширина більша, ніж у дорослих, що свідчить про меншу міграційну здатність клітин пухлини.

Таким чином, за результатами морфологічних і електронно-мікроскопічних досліджень напівтонких і ультратонких зрізів показано як значну подібність МБ у дітей і дорослих, так і їх відмінності, що зумовлює біологічні та клінічні відмінності МБ у хворих різного віку.

Крім того, слід зазначити, що жоден з морфометричних показників, взятий окремо, не є патогномонічною ознакою неоплазії і не може бути індикатором інтенсивності малігнізації пухлини. В анатомо-клінічному контексті морфометричні критерії варто розглядати в комплексі з іншими функціональними та клінічними показниками.

РОЗДІЛ 4

ВМІСТ СТОВБУРОВИХ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ТА ІНШИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ У МЕДУЛОБЛАСТОМАХ ДОРОСЛИХ ХВОРИХ

Успіхи молекулярної біології та генетики сприяли істотному поглибленню уявлень про патологічні процеси в організмі, зокрема, при онкологічних захворюваннях. Виникли нові наукові напрямки: геноміка, протеїноміка, з'явилися нові терміни, наприклад, молекулярні маркери, предиктори, за якими можна прогнозувати як стан здоров'я пацієнта, так і передбачити виникнення захворювання, прогнозувати його наслідки, визначати ефективність лікування.

На сьогоднішній день з'ясоване значення багатьох функціонально важливих змін у різних структурах клітин за різної патології, особливу увагу приділяють молекулярних предикторам злоякісних пухлин.

Серед різних маркерів клітин пухлини особливу увагу приділяють вивченню показників, які можна використовувати в якості діагностичних або прогностичних, вони характеризують процеси міграції, інфільтративного росту, проліферації, метастазування. Одним з таких маркерів у пухлинах людини, в тому числі і злоякісних пухлинах мозку є СПК, з якими пов'язують різні біологічні властивості пухлин. Згідно сучасних теорій канцерогенезу, важливе значення надається СПК, з якими пов'язують багато ознак новоутворень, таких як темп росту, метастазування, хіміо- і радіорезистентність та інші. Останніми роками виявлено, що поряд з СПК, здатними спричинити ріст новоутворення, у пухлинному вогнищі наявні незмінені стовбурові клітини, які не індукують розвиток пухлини. Співвідношення СПК і незмінених стовбурових клітин у кожному окремому

випадку або за певного гістологічного типу новоутворення невідоме, але як указувалось в огляді літератури більшість дослідників вважають, що у більш злоякісних пухлинах частка СПК більша. Основний метод визначення СПК у пухлинах — виявлення антитіл до протеїну НСК — промеїну-1 (CD-133-антигену). Визначити вміст CD-133⁺ клітин у пухлинному вогнищі можна за допомогою різних методів, зокрема, ІГХ, імунофлуоресценції з використанням проточного цитофлуорометра або люмінесцентного мікроскопа.

У нашому дослідженні використана ІГХ методика з моноклональними анти CD-133⁺ антитілами. Досліджені 44 зразки МБ дорослих, отримані під час нейрохірургічних втручань в період з 2002 по 2013 рр.

Також досліджені зразки МБ 20 дітей віком від 1 до 12 років, 21 зразок ГБ та 5 примітивно нейроектодермальних пухлин пухлин (ПНЕП), які склали групу порівняння. За даними ІГХ досліджень, всі 4 різних гістотипи МБ містять CD-133⁺ клітини, але у різній кількості (рис. 4.1–4.4). Не всі пухлини одного й того самого гістохімічного типу містять CD-133⁺ клітини (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1.

Частота виявлення пухлин, які містять CD-133⁺ клітини, у хворих основної групи і групи порівняння

Групи хворих		Кількість досліджених зразків	Кількість зразків, у яких виявлені CD-133 ⁺ клітини		Статистичні показники
			абс.	%	
Основна (МБ у дорослих хворих)		44	30	68,2	$\chi^2_{1-2}=1,99$, p=0,26
Група порівняння	МБ у дітей	20	17	85,0	
	ГБ	21	19	90,7	$\chi^2_{1-3}=1,64$, p=0,19
	ПНЕП	5	3	60,0	$\chi^2_{1-4}=0,2$, p=0,83
Загалом		90	69	76,6	

Найчастіше CD-133⁺ клітини виявляли у ГБ (90,7% спостережень) і МБ у дітей (у 85%). Отримані результати збігаються з даними літератури про наявність СПК у більш ніж 80% зразків ГБ. У МБ дорослих кількість CD-133⁺ клітин значно менша (68,2% спостережень), хоча достовірних відмінностей між МБ дорослих і дітей та гліобlastомами не виявлено.

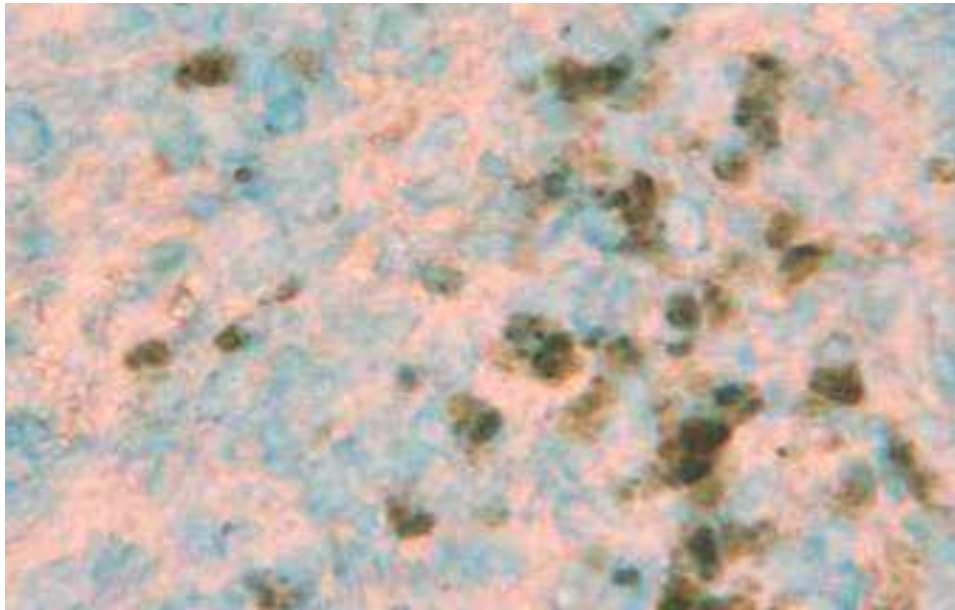


Рис. 4.1. Мікрофото. ІГХ дослідження. Тканина МБ дорослого пацієнта. Нерівномірний розподіл (фокальне скупчення) CD-133⁺ клітин. Допоміжне забарвлення метиленовим зеленим. Зб.×800.

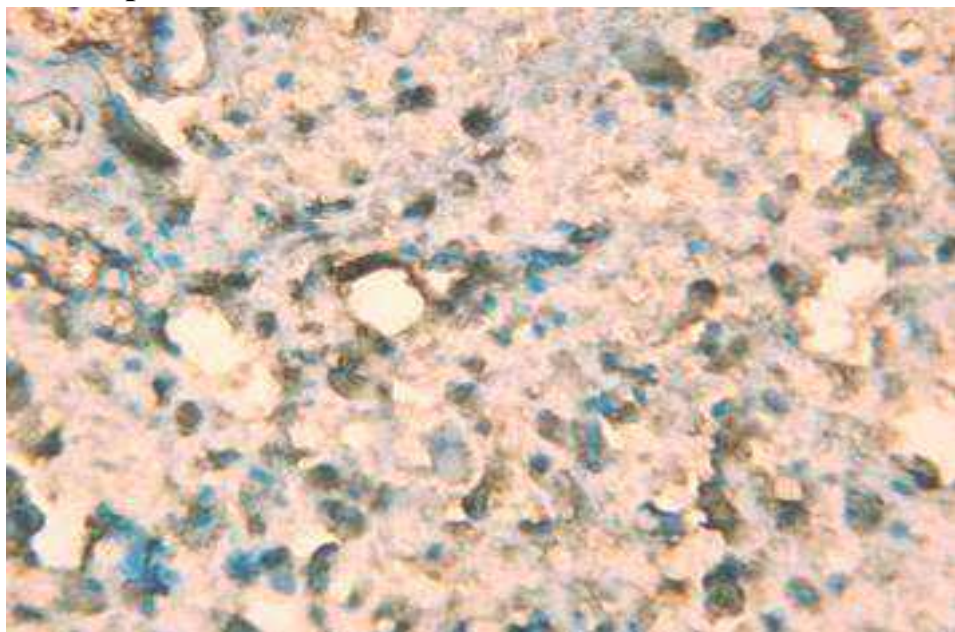


Рис. 4.2. Мікрофото. ІГХ дослідження. Тканина ГБ. Дифузний і перевазальний розподіл CD-133⁺ клітин. Допоміжне забарвлення метиленовим зеленим. Зб.×400.

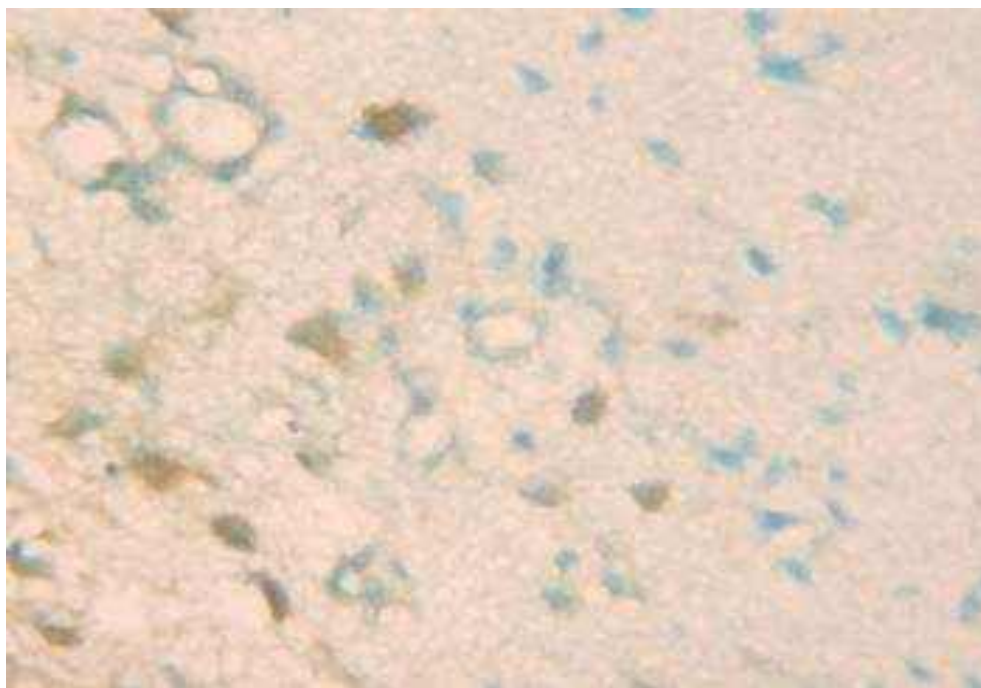


Рис. 4.3. Мікрофото. ІГХ дослідження. Тканина МБ. Поодинокі імунопозитивні CD-133⁺ клітини в зоні інвазивного росту пухлини. Допоміжне забарвлення метиленовим зеленим. Зб.×400.

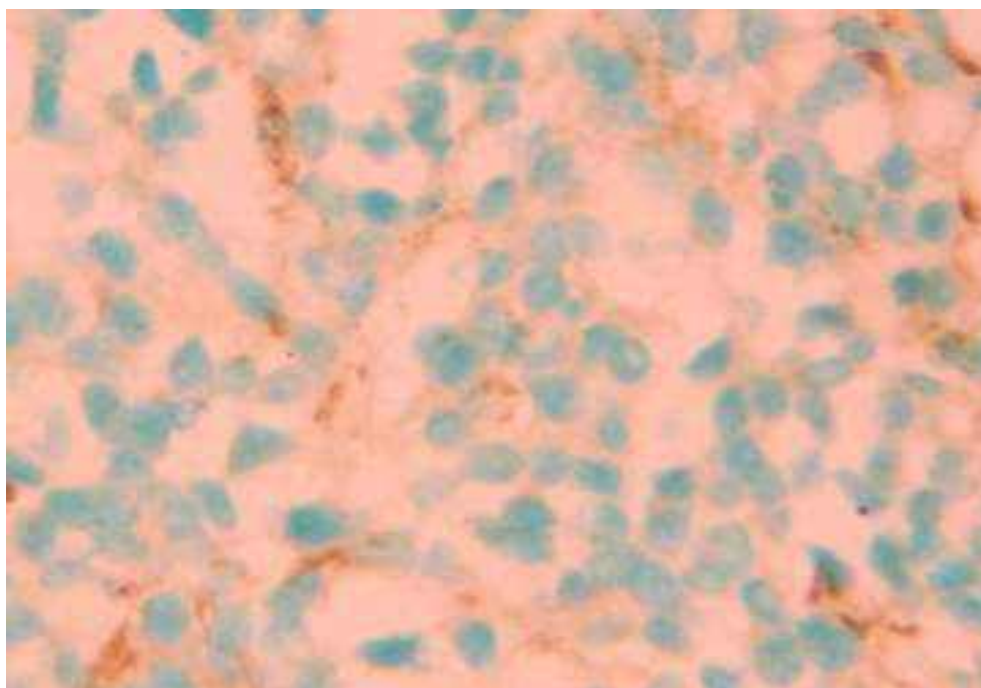


Рис. 4.4. Мікрофото. ІГХ дослідження. Тканина ПНЕП. Поодинокі імунопозитивні CD-133⁺ клітини в тканині пухлини. Допоміжне забарвлення метиленовим зеленим. Зб.×400.

Вміст CD-133⁺ клітин в окремих зразках пухлини сильно різнився: від поодиноких клітин до інтенсивної інфільтрації (понад 50% усіх клітин у полі

зору). У табл. 4.2 наведено інтенсивність інфільтрації (у балах) CD-133⁺ клітинами зразків пухлин різних гістологічних типів.

Таблиця 4.2.

Інфільтрація CD-133⁺ клітинами пухлин у хворих основної групи та груп порівняння, у балах.

Групи хворих		Кількість пухлин, у яких виявлені CD-133 ⁺ клітини	Інтенсивність інфільтрації тканини пухлин CD-133 ⁺ клітинами, балів					
			1		2		3	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Основна (МБ у дорослих хворих)		30	9	30	14	46,7	7	23,3
			$\chi^2_{1-2}=0,34,$ $p=0,5$			$\chi^2_{1-2}=0,23,$ $p=0,73$		
Групи порівняння	МБ у дітей	17	3	17,65	12	70,6	4	23,3
	ГБ	19	1	5,26*	7	36,8	11	57,8*
			$\chi^2_{1-3}=4,2,$ $p=0,038$			$\chi^2_{1-3}=4,5,$ $p=0,032$		

Примітка. * — відмінності показників між групами ГБ і МБ у дорослих достовірні ($p<0,05$).

CD-133⁺ виявлені у більшій кількості зразків МБ дорослих, ніж у дітей (відповідно у 30% і 17,6% спостережень). Незначну кількість СПК у МБ дорослих виявляли у 6 разів частіше, ніж у ГБ. В той же час, велику кількість СПК виявляли приблизно з однаковою частотою у МБ дорослих і дітей (майже у 23% спостережень), тоді як у ГБ — у 50%.

За результатами аналізу інтенсивності інфільтрації тканини пухлини СПК можна стверджувати, що: 1) внутрішньомозкові злоякісні новоутворення містять різну кількість СПК; 2) майже у 30% зразків МБ дорослих СПК не виявлені, у 30% — відзначали невелику кількість CD-133⁺ клітин; частка МБ дорослих з малим вмістом СПК у 2 рази більша, ніж

частка дитячих МБ і в 6 разів більша, ніж ГБ; 3) особливості вмісту CD-133⁺ клітин у МБ дорослих свідчать про їх біологічні відмінності від МБ у дітей і ГБ — менша кількість CD-133⁺ СПК у цих пухлинах може вказувати на меншу швидкість проліферації клітин пухлини та її повільний ріст, що зумовлює виникнення клінічних проявів у більш пізньому віці, повільніший перебіг захворювання у дорослих, що підтверджене численними даними літератури, які приведені в огляді літератури раніше. Не виключається ймовірність того, що, крім СПК, певну роль у виникненні МБ грають інші фактори (певні генетичні зрушення, вірусні, екологічні, канцерогенні чинники).

Тобто для МБ дорослих велика кількість СПК в пухлині не характерна, частіше у них виявляють поодинокі СПК або їх невеликі скупчення.

За даними нашого дослідження, наявність СПК у тканині пухлини не залежить від віку і статі хворих. Так, CD-133⁺ клітини виявлені у тканині пухлин 30 хворих — у 18 (40,9%) чоловіків і 12 (27,2%) жінок, не виявлені у 14 пацієнтів: у 6 (13,6%) чоловіків і 8 (18,2%) жінок. Вік хворих, у яких у тканині пухлини виявляли CD-133⁺ клітини, у середньому становив $(26,40 \pm 1,38)$ року, у яких не виявляли — $(27,35 \pm 2,3)$ року.

Вік хворих з пухлинами, у яких виявляли СПК, і без таких приблизно однаковий — $(26,4 \pm 1,38)$ і $(27,3 \pm 52,34)$ року, хоча у групі пухлин, у яких СПК не виявлені, було двоє хворих старше 40 років, у групі пухлин з СПК найстаршому пацієнту було 50 років. Найчастіше пухлини (позитивні та негативні за вмістом СПК) виявляли у пацієнтів віком від 20 до 25 років. З 44 хворих, пухлини яких вивчали на предмет вмісту СПК, лише 5 (11,36%) були старше 35 років, тобто в осіб старшого віку у МБ також виявляють СПК.

Цікавим виявився розподіл за статтю: у більшості чоловіків у МБ виявляли СПК, у жінок — навпаки, проте, відмінності не достовірні. Згідно даних літератури, в осіб чоловічої статі МБ виявляють частіше, ніж у жіночої [7,8,9]. Таким чином, наявність СПК у МБ достовірно не пов'язана з віком хворих, ці клітини частіше виявляють в пухлинах осіб віком 20–30 років.

Важливими показниками активності пухлинного процесу є розмір новоутворення, його потенціал до метастазування та інфільтрованого росту. 44 спостереження МБ розподілені нами за класифікацією Chang, залежно від вмісту у них СПК. У великих пухлинах T₃–T₄ M₀ СПК виявляли у 5 разів частіше (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

Розподіл МБ за розмірами та наявністю СПК

Пухлини за вмістом СПК	Кількість спостережень МБ різного розміру							
	T ₃ –T ₄ M ₀		T ₂ M ₀		T ₁ M ₀		Загалом	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
СПК виявлені	16*	53,3	10	33,3	4	13,3	30	68,2
СПК не виявлені	3	21,5	10	71,4	1	7,1	14	31,8
Загалом	19	43,2	20	45,5	5	11,4	44	100

Примітка. * — відмінності достовірні ($\chi^2=4,77$, $p<0,01$).

Так, СПК виявлені у 16 (53,3%) зразках МБ великого розміру, у 10 (33,3%) — середнього розміру (відмінності достовірні). Це положення підтверджене даними літератури, які узгоджуються з природою СПК і свідчать, що ці клітини сприяють швидкому росту пухлин.

Дещо незрозумілим залишається той факт, що невеликі за розміром МБ також містили СПК. Логічним було б припущення про те, що у малих новоутвореннях СПК немає. Ми пропонуємо таке пояснення. По-перше, не виключена можливість того, що хворі з малими за розміром МБ досить швидко звернулися по нейрохірургічну допомогу, пухлина діагностована у короткі строки, не встигнувши досягти великих розмірів. По-друге, можливо у пухлині на етапі її виникнення СПК є основними клітинами, оскільки вони

швидко розмножуються й утворюють невеликий вузол, згодом з них формується пухлина розміром T_3 – T_4 , яка швидко росте, або T_2 пухлина, що містить менше СПК і росте повільніше.

Таким чином, у великих пухлинах (T_3 – T_4) СПК виявляють у 2,5 разу частіше, ніж в новоутвореннях середнього розміру (T_2). Однак майже 30% пухлин середнього розміру містять СПК, тобто і в невеликих за розміром МБ дорослих можуть бути СПК, які мають певний вплив на темпи її росту. Ймовірно, при досягненні МБ певних розмірів (T_2M_0), можна говорити про розподіл пухлини на дві групи: 1) ті що ростуть повільно, через незрозуміле гальмування проліферації та «зникнення» СПК; 2) ті, в яких СПК зберігаються і зумовлюють подальший ріст до T_3 – T_4 . Однак, ці положення потребують подальшого дослідження. У той же час, СПК вважають одним з маркерів злоякісності, вони є першопричиною ініціації виникнення пухлин та їх швидкого росту, що підтверджується даними літератури і, частково, результатами нашого дослідження. Можливо, за розміри пухлин відповідають інші клітини, які входять до складу пухлинного вузла, в якому, як відомо, виявляють численні пухлинні клітини різного ступеня диференціювання, клітини сполучної тканини, стінки судин тощо. Відповідно до теорії виникнення пухлин з СПК, останні лише ініціюють її ріст, розмножуючись, дають наступні популяції пухлинних клітин — нащадки СПК або прогеніторні пухлинні клітини, що в подальшому розмножуються та диференціюються у новоутворення відповідного гістологічного типу. Зазначені клітини-нащадки, як більш диференційовані, вже не мають ознак СПК, зокрема, не експресують ембріональні антигени — CD-133 молекулу — тому для МБ характерні ознаки гліального, епендимарного і нейрального диференціювання. Лише незначна частина клітин у пухлинному вузлі зберігають ознаки СПК — це клітини, які при проліферації відтворюють самі себе, у МБ їх небагато (лише 33% пухлин експресують CD-133 молекули), у ГБ — не більше 10–20% загальної кількості клітин. Це дозволяє припустити, що СПК виконують певні,

обмежені, функції у МБ дорослих і не є основною причиною швидкого росту пухли , за ці процеси можуть відповідати інші клітини.

У нашому дослідженні проаналізований період спостереження між першою та повторною операцією (15 спостережень), яку виконували за продовженого росту пухлини, цей період певною мірою характеризує швидкість прогресування захворювання, хоча може залежати від радикальності хірургічного втручання, локалізації новоутворення, наявності у його тканині СПК. В середньому період між першою і повторною операцією становив $(32,97 \pm 6,24)$ міс, при $CD-133^+$ пухлинах (9 спостережень) — $(23,55 \pm 5,6)^*$ міс, при $CD-133^-$ пухлинах (6 спостережень) — $(45,25 \pm 11,65)$ міс ($p < 0,05$).

За наявності у тканині пухлини СПК захворювання прогресувало швидше, що дозволяє стверджувати, що наявність СПК прискорює виникнення рецидиву МБ у дорослих, скорочує строки час між першою та повторною операціями.

Наводимо клінічні спостереження.

Клінічне спостереження. №1 . Хвора Д-у Т.І., 29 років. Госпіталізована у 2002 р. з підозрою на наявність пухлини у правій півкулі мозочка. За даними КТ ГМ діагностоване утворення округлої форми діаметром 42 мм з солідним і кістозним компонентами. Перифокальний набряк незначний, до 5 мм. Новоутворення стискало IV шлуночок ГМ. Серединні структури ГМ не змінені. Здійснене субтотальне видалення пухлини розміром 4 см³ разом з кістою. Солідна частина пухлини становила 4×2×3 см. За даними протоколу операції, межа між тканиною пухлини та мозочку не була чіткою на всьому протязі. Через 1,5 року за даними сцинтиграфії та МРТ, а також за даними МРТ через 3 роки продовжений ріст пухлини не виявлений. У лобно-підкорковій ділянці виявлене ішемічне вогнище розміром 3×1 см. IV шлуночок ГМ розширений, не деформований. За даними МРТ ГМ у 2007 і 2008 р. даних за пухлину мозочка немає. За даними МРТ у 2009 р. відзначений продовжений ріст пухлини правої півкулі мозочка. Хвора

оперована повторно у 2009 р., видалено пухлину діаметром 5 см. За даними МРТ у 2010 р. виявлені множинні метастази у ГМ і спинний мозок. Рекомендована ПТ за місцем проживання. Таким чином, впродовж 7 років після першої операції за даними МРТ ознаки продовженого росту пухлини не виявляли, через 6 міс після повторного втручання виявлені метастази у ГМ і спинний мозок.

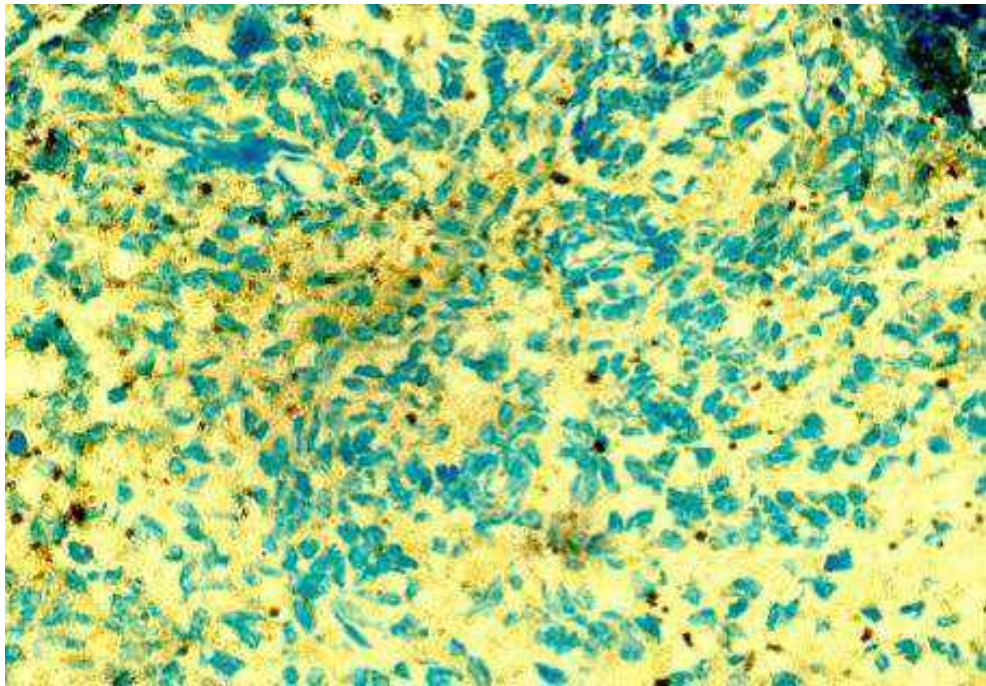
За даними ІГХ дослідження тканини пухлини після першої та повторної операцій СПК не виявлені.

Клінічне спостереження №2. Хвора В-ко В.С., 17 років. Госпіталізована з приводу пухлини у правій півкулі мозочка діаметром 4 см. Ознаки захворювання виникли за 5 міс до звернення до нейрохірурга. Під час операції тотально видалена пухлина діаметром 4 см. Хворій проведена ПТ за місцем проживання. Через 1,5 року пацієнтка оперована повторно з приводу продовженого росту пухлини; проведений курс ПТ (60 Гр). У 2005 р. хвора оперована втретє через продовжений ріст пухлини; курс ПТ (30 Гр), ХТ. Через півроку виконана четверта операція — по перифокальній зоні видалена пухлина мозочка розміром 5,4×4,5 см; рекомендований курс ПТ.

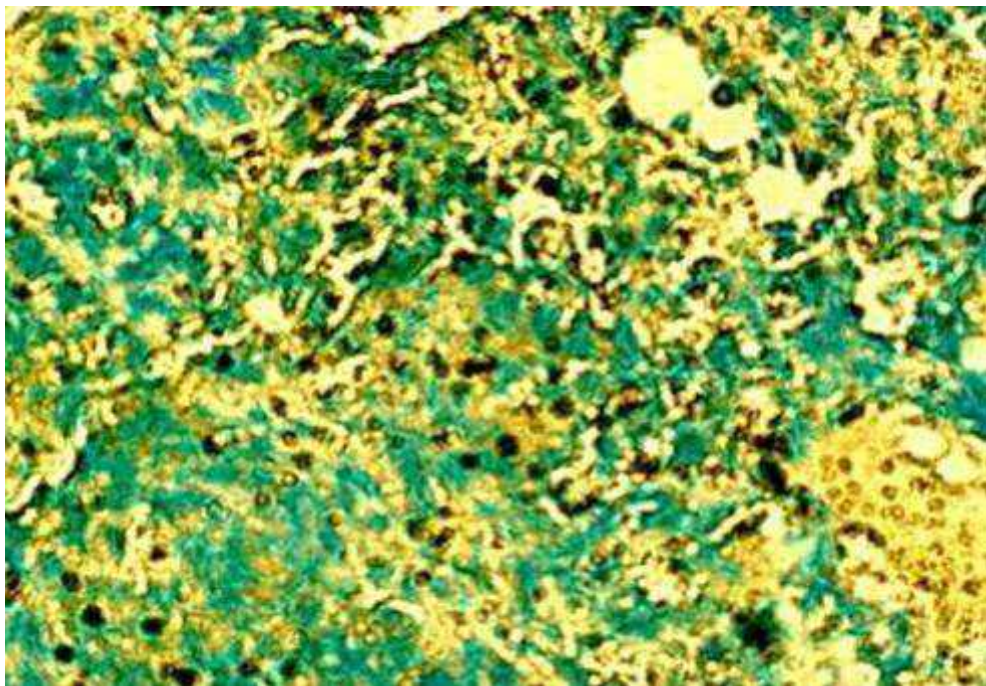
Таким чином, пацієнтки пухлина росла швидко, рецидив виникав через 1–1,5 року, незважаючи на хірургічне лікування (4 втручання за 4 роки), курси ПТ і ХТ.

За даними ІГХ дослідження у тканині пухлини виявлені СПК.

Наведені клінічне спостереження довготривалої та короткої ремісії після операції певною мірою свідчать про роль СПК у продовженому рості МБ (рис. 4.5).



А



Б

Рис. 4.5. Мікрофото. ІГХ визначення СПК у тканині МБ хворої В-о після першої (А) і повторної (Б) операцій.Клінічне спостереження №2 Допоміжне забарвлення метиленовим зеленим. Зб.×200.

За даними ІГХ дослідження тканини пухлин після першої та повторної операцій, вміст CD-133⁺ клітин після повторного втручання дещо збільшувався у 6 з 9 хворих при МБ. В 1 з 6 спостережень, в якому після

першої операції у тканині пухлини СПК не виявляли, після другого втручання відзначали невелику їх кількість (1–2 бали).

Таким чином, за нашими даними, наявність СПК у тканині МБ дорослих осіб сприяє прискоренню її продовженого росту; після повторних втручань кількість СПК у зразках пухлини дещо збільшується.

Відкритим залишається теоретичне питання щодо природи СПК. Їх вважають нащадками незмінених НСК, які наявні у ГМ дорослих осіб і здатні мігрувати з місць первинної локалізації до так званих «ніш», а також брати участь у відновленні та регенерації пошкоджених ділянок мозку. Існує інша теорія, згідно якої СПК походять з ембріональних НСК, які в силу невідомих причин зберігаються у ГМ впродовж тривалого часу і під дією певних екзо- або ендогенних чинників активізуються і трансформуються у пухлинні клітини, що зумовлює їх необмежену проліферацію. Природа цих чинників потребує подальшого вивчення, однак, оскільки СПК частіше виявляють у МБ у чоловіків, можна говорити про певне значення ендокринних факторів, пов'язаних зі статевими гормональними особливостями. Також існує думка, що під дією канцерогенних факторів і вірусів зрілі нервові клітини (глія, нейрони, епендима) здатні до мутацій, диференціюватися у зворотному напрямку до рівня СПК. Не можна виключати жоден з трьох наведених механізмів виникнення МБ у дорослих осіб, кожен з них може спричиняти певні відмінності між МБ і більш доброякісними пухлинами у дорослих порівняно з такими у дітей. Крім того, більш доброякісний перебіг захворювання і висока чутливість до опромінення МБ дорослих порівняно з такими у дітей дозволяє припустити, що СПК, які виявляють у тканині пухлин дорослих пацієнтів, походять з незмінених НСК дорослих осіб, а не з ембріональних стовбурових клітин, які, як відомо, більш життєздатні і мають більший проліферативний і міграційний потенціал. Все вищезазначене необхідно враховувати при аналізі природи МБ і виборі тактики лікування хворих.

Зважаючи на окремі дані про вміст і роль СПК у виникненні МБ у дорослих, важливим є визначення зв'язку цих клітин з певним гістологічним типом новоутворення (табл. 4.4). СПК виявляли у МБ різної гістологічної структури.

Таблиця 4.4.

Частота виявлення СПК у МБ різної гістоструктури.

МБ за наявністю СПК	Кількість спостережень	Гістологічний тип МБ					
		класична		десмопластична		анапластична	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
СПК ⁺	30	16	53,3	10*	33,3	4	13,3
СПК ⁻	14	7	50	5	35,7	2	14,3
Разом	44	25	56,8	13	29,5	6	13,6

Примітка. * — відмінності показників у групах класичних і десмопластичних МБ не достовірні ($\chi^2=0,50$, $p>0,05$).

Таким чином, можна говорити про тенденцію, а не про статистичну закономірність: у класичних МБ кількість СПК більша, ніж у десмопластичних.

Результати вивчення вмісту СПК у МБ різних гістотипів доповнюють уявлення про значення цих клітин в індукції та розвитку пухлин у дорослих осіб. Потребують вирішення такі питання стосовно МБ у дорослих:

- 1) чому МБ, які відносять до ембріональних пухлин, що виникають внаслідок генетичних порушень у клітинах зернистого шару мозочка, виникають у дорослих осіб різного віку?
- 2) Чому певні генетичні зміни у клітинах, які виникли (як вважають більшість дослідників) у період ембріонального розвитку ГМ, зберігаються впродовж кількох десятиліть, і лише через 20–40 років виникає пухлина? Що служить стимулом для активації таких змінених клітин?

- 3) Чому МБ у дорослих менш злоякісні, ніж у дітей, і більш чутливі до ХТ і ПТ?

Перелік не до кінця вивчених питань і суперечливих моментів, пов'язаних з МБ, можна було б продовжити, сподіваємося, що подальші дослідження їх біологічних властивостей дозволять відповіді хоча б на деякі з них. Останніми роками велику увагу у загальній та нейроонкології приділяють СПК, особливо у ГБ і МБ. Сформована на цих засадах теорія виникнення пухлин з поліпотентних незмінених стовбурових клітин в ембріональному та дорослому періодах життя внаслідок їх генетичних змін (мутацій) отримала експериментальне підтвердження, СПК стали об'єктом численних досліджень, вивчають їх роль як у патогенезі злоякісного росту, так і пошуках нових методів лікування.

У той же час, акцентування уваги майже всіх дослідників на СПК не виправдане, оскільки це положення має більш теоретичне, ніж практичне значення, що зумовило виникнення протиріч з даними генетико-гістологічних досліджень, наприклад з тим, що МБ розвиваються з генетично-змінених клітин зернистого шару мозочка ембріона. Можливі обидва механізми виникнення МБ, а також їх поєднання. Відносно МБ у дорослих, існуючі розбіжності ускладнюються з урахуванням віку хворих, оскільки виникнення у них пухлини з ембріональних стовбурових клітин викликає сумніви. Все це наводить на думку, що у МБ дорослих не обов'язково наявні СПК, ці клітини у дорослих осіб відрізняються від таких у дітей; у дітей СПК виникають з стовбурових клітин ембріонального мозку, у дорослих — є нащадками незмінених НСК дорослих, вони дещо відрізняються від ембріональних клітин, активність їх нижча. Припущення про відмінності СПК МБ у дітей і дорослих можна аргументувати тим, що захворювання у дорослих має більш доброякісний перебіг, пухлини більш чутливі до опромінення.

Отже, СПК виявлені у 68% досліджених зразків МБ, проте, у різній кількості, у великих новоутвореннях (T₃₋₄M0) їх виявляли частіше, ніж у

пухлинах меншого розміру. Все це може бути пов'язане з тим, що СПК походять з НСК, в подальшому більшість з них розмножується і диференціюється в пухлинні клітини (пухлинні прогенітори) з ознаками гліального або нейронального типу. Можна думати, що СПК є однією з причин виникнення МБ у дорослих осіб, хоча питання чому інтактні стовбурові клітини дорослих трансформуються в СПК, потребує подальшого дослідження.

Крім СПК у тканині пухлин виявляють інші типи стовбурових клітин, зокрема, гемопоетичні CD-34, відповідальні за гематопоез у кістковому мозку, вони здатні до міграції у різні органи і тканини та трансдиференціювання. Наприклад, введення щурам мічених гемопоетичних клітин сприяло їх накопиченню між ендотеліоцитами судин ГМ, що дозволило зробити припущення про їх участь у рості судин пухлини. Після трансплантації у ГМ лабораторних тварин CD-34 клітини починали секретувати різні нейропептиди і фактори росту: нейрофіламенти-1, нейтральний ядерний протеїн, фактор росту нервів. Крім молекули CD-34, гемопоетичні клітини експресують молекулу CD-38, яка є трансмембранним глікопротеїдом з біфункціональною (циклазною і гідролазною) ферментативною активністю і відображає активований стан клітини. Ця молекула експресується, крім гематогенних і лімфоїдних, на інших клітинах організму: м'язових, ендокринних, ендотеліальних у стані активації. Вміст клітинних маркерів CD-34, CD-38 у злоякісних пухлинах ГМ, зокрема, МБ вивчений недостатньо.

Все це зумовлює необхідність пошуку ознак (предикторів), які б дозволили б розробити диференційований підхід до діагностики та лікування.

Важливими є взаємовідношення пухлини з імунною системою (реакції протиопухлинного імунітету, лімфоцити, що інфільтрують новоутворення). Імунні процеси при ГБ вивчені набагато краще, ніж при МБ. У нашому дослідженні вивчали вміст лімфоцитів, що інфільтрували МБ, у хворих

різного віку, отримані дані зіставляли з вмістом подібних клітин у гліальних пухлинах I–III ступеня анаплазії.

Вміст лейкоцитів і лімфоцитів, як інфільтрували пухлину, визначали за загальноприйнятою методикою у суспензії клітин пухлини за допомогою моноклональних антитіл: CD-45 антитіл до загального лейкоцитарного антигену, CD-3 антитіл до загальної популяції T-лімфоцитів, CD-34 антитіл до гемопоетичних клітин кісткового мозку на проточному лазерному. Оскільки МБ — пухлини, які виявляють переважно у дітей, у групу порівняння включили гліальні, переважно астроцитарні, пухлини різного ступеня анаплазії пацієнтів дитячого віку. Вік хворих обох груп приблизно однаковий: при МБ — $(11,3 \pm 1,65)$ року, при гліомах — $(7,15 \pm 0,85)$ року. Вміст CD-45⁺ і CD-3⁺ клітин у гліомах більший, ніж у МБ, проте, відмінності недостовірні ($p > 0,05$) (табл. 4.5). У МБ і астроцитомах рівень імунних клітин майже однаковий, невисокий, що свідчить про їх подібність.

Вміст гемопоетичних CD-34⁺ клітин у гліомах був достовірно вищим і становив майже 7% від загального числа пухлинних клітин, у МБ — 3,33%. Таким чином, як МБ, так і астроцитомах накопичуються гемопоетичні CD-34⁺ клітини, які в нормі відсутні в периферичній крові; це пояснюється участю цих клітин в ангиогенезі судин пухлини. У МБ виявляли менше CD-34⁺ клітин, ніж у гліомах, що можна пояснити більшою васкуляризацією останніх. Таким чином, незважаючи на приблизно однаковий вміст у гліомах і МБ T-лімфоцитів і лейкоцитів, рівень гемопоетичних клітин різнився, що вказує на певні біологічні відмінності цих новоутворень. Вміст гемопоетичних клітин може бути певним предиктором (маркером) швидкості росту як пухлинних судин, так і самої пухлини.

Таблиця 4.5.

Вміст CD-45⁺, CD-3⁺, CD-34⁺ клітин у МБ і гліомах ГМ.

Пухлини	Показники, M±m			
	Вік хворих, років	Вміст клітин		
		CD-45 ⁺	CD-3 ⁺	CD-34 ⁺
МБ (n=37)	11,3±1,69	11,41±3,35	6,3±1,27	3,33±0,72
Гліоми (n=12)	7,15±0,85	16,71±2,8	7,8±1,62	6,95±0,88

Примітка. * — відмінності показників достовірні (p<0,05).

Важливими факторами, що впливають на біологічні особливості пухлини, клінічну картину захворювання, можуть бути й інші молекулярні маркери, які визначають проліферативний і міграційний потенціал клітин, однак, вони недостатньо вивчені. 37 зразки МБ за допомогою моноклональних антитіл досліджені на наявність на мембрані клітин пухлини рецепторів, відповідальних за проліферацію (CD-25, CD-38), апоптоз (CD-95), адгезію (CD-56), онкопротеїну Р-53, імунних (CD-3, CD-45) і гемопоетичних (CD-34) клітин.

Пацієнти при МБ розподілені за віком на три групи: 1) від 1 до 5 років (8 хворих); 2) від 6 до 16 років (14 хворих); 3) від 16 до 43 років (19 хворих) (табл. 4.6).

Вміст Т-лімфоцитів, що інфільтрували пухлину, був найменшим у МБ дорослих осіб — (4,32±2,9)%, дещо більшим — у дітей віком від 1 до 5 років — (5,52±1,59)%. Найбільший вміст Т-лімфоцитів, що інфільтрували пухлину, виявлений у хворих віком 6–14- років, — (7,49±2,02)%. У МБ дорослих осіб містилося вдвічі менше гемопоетичних клітин, ніж у дітей. У пухлинах дорослих хворих вміст імунних і стовбурових гемопоетичних клітин достовірно менший. Причини таких відмінностей до кінця не з'ясовані. Можливо, у МБ більш старших осіб судинна мережа менш проникна, відповідно, інфільтрація пухлини клітинами крові менша. Хоча, можливе й інше пояснення: пухлинам дорослих притаманний більш високий супресивний потенціал, лейкоцити і лімфоцити у тканину новоутворення не

«допускаються». Привертає увагу низький вміст у пухлинах дорослих пацієнтів гемопоетичних клітин, які експресують CD-34 молекулу. Оскільки гемопоетичні стовбурові CD-34 клітини можуть посилювати ріст судин і пухлин, високий вміст цих клітин в пухлинах у дітей пов'язують з більш швидким ростом МБ, навпаки, низький вміст у пухлині стовбурових гемопоетичних клітин свідчить про більш повільний її ріст.

Таблиця 4.6.

Вміст у МБ клітин, що експресують різні молекулярні маркери, які визначають за допомогою моноклональних антитіл.

Моноклональні антитіла до	Вміст клітин, які вивчали, у пухлинах хворих різного віку, %		
	1–5 років, (3,07±1,59) року (n=8)	6–15 років, (8,8±0,4) року (n=14)	16–40 років, (21,25±3,72) року (n=19)
CD-3	5,52±1,59	7,49±2,02	4,05±2,9
CD-45	2,28±0,5	16,8±9,07	5,8±2,8
CD-34	4,22±2,62	5,26±1,4	2,29±0,71*
CD-38	21,18±8,06	17,7±4,31	13,6±5,89
CD-56(NCAM)	23,3±6,12	29,3±4,86	13,9±3,65*
CD-95	24,2±3,54	23,1±3,36	13,8±3,9*
CD-25	14,7±5,08	25,1±3,36	5,67±3,47*
P-53	8,25±2,61	16,5±4,8	19,6±6,0

Примітка. * — відмінності показників достовірні між групою дорослих та групами дитячих пацієнтів ($p < 0,05$).

Вміст клітин, що експресують активаційні молекули CD-38 і CD-25, у хворих різного віку різнився. Так, вміст CD-38⁺ клітин у пухлинах у дітей молодшого віку становив (21,18±8,06)%, у дітей віком від 6 до 14 років — (17,7±4,3)%, в осіб віком від 15 до 40 років — (13,6±5,8)%, тобто, поступово зменшувався з віком хворого. Рецептор IL-2 (CD-25⁺) також частіше визначали на клітинах пухлин у дітей молодшого віку — у (14,7±5,09)% спостережень, у дітей віком від 6 до 14 років — (11,2±2,1)%. Відмінності

показників у групах недостовірні. У той же час, у пухлинах дорослих осіб вміст CD-25⁺ клітин становив лише (5,65±3,47)%, відмінності достовірні порівняно з хворими дитячого віку (p<0,05). Таким чином, на клітинах МБ у дітей міститься більше активаційних рецепторів, зокрема, IL-2 і CD-38⁺, що свідчить про більш високий проліферативний потенціал. Також різнилася кількість клітин, які мали нейрональну молекулу адгезії NCAM (молекулу CD). Виявилося, що (13,9±3,69)% клітин пухлин у дорослих експресують молекулу CD-56, (23,3±6,12)% — у дітей молодшого віку, (29,3±4,8)% — у дітей віком від 6 до 14 років, відмінності між дорослими пацієнтами і дітьми достовірні (p<0,05). Апоптотичну готовність клітин пухлини визначали за наявністю на них Fas-рецептора (CD-95⁺), цей показник становив (23,2±3,54)% — у дітей віком від 1 до 5 років, (23,1±3,96)% — у дітей віком від 6 до 14 років, (13,86±3,9)% — у хворих віком 15 років і старше (p<0,05). Протеїн p-53 експресували (8,25±2,6)% клітин пухлини у дітей віком від 1 до 5 років, (15,72±4,8)% — у дітей віком від 6 до 14 років, (19,6±6,0)% — у пацієнтів віком 15 років і старше.

Проведені дослідження свідчать про вікові особливості МБ: вони містять різну кількість клітин, що експресують певні функціонально активні молекули, так звані пре диктори. Найбільше відрізнялися показники у дітей молодшого віку і дорослих осіб. Так, майже 25% клітин пухлин у дітей експресували рецептори активації CD-25⁺ і CD-38⁺, що свідчить про високий проліферативний потенціал таких новоутворень; у пухлинах дорослих хворих таких клітин (особливо CD-25⁺) було не більше 5–6%. Інший важливий показник — кількість клітин, які експресують протеїн онкосупресорного гену — p-53: у пухлинах дорослих осіб таких клітин було (19,6±6,01)%, у дітей віком від 1 до 5 років — (8,25±2,6)%, у дітей віком від 6 до 14 років — (11,3±2,1)%. Таким чином, порушення в системі онкосупресії більш виражені у дітей, лише 8–10% клітин пухлини мали незмінений онкосупресорний протеїн P-53. Порушення у гені P-53 можуть бути різними

— від мутацій гена до повної його втрати, внаслідок чого зменшуються вміст й активність p-53 протеїну, починається необмежена проліферація клітин пухлини. У МБ дорослих кількість клітин, що містять p-53 протеїн, більша, ніж, у дітей, тобто для пухлин дорослих осіб характерний менший проліферативний потенціал, Високий проліферативний потенціал клітин МБ характеризується їх високою апоптотичною готовністю. Так, 25% клітин МБ у дітей експресують Fas-рецептор апоптозу (молекулу CD-95⁺), що свідчить про високий проліферативний потенціал і чутливість до апоптотичних впливів з боку мікрооточення клітин, високу ймовірність виникнення апоптозу, утворення кіст. У МБ дорослих пацієнтів клітин, що експресують Fas-рецептор, вдвічі менше, ніж у дітей, що свідчить про певні біологічні відмінності МБ у дітей і дорослих.

Таким чином, у МБ дорослих осіб менше клітин, які експресують активаційні рецептори, що відповідають за проліферацію, також в них міститься більше клітин з незміненим онкопротеїном p-53, вони менш чутливі до апоптотичні впливу через низький вміст клітин з рецептором апоптозу. Крім того, у пухлинах дорослих осіб менше клітин, що містять нейрональну молекулу адгезії NCAM, що свідчить про меншу міграційну і метастатичну здатність таких пухлин.

NCAM — не єдина молекула, яка відповідає за адгезивні та міграційні властивості клітин пухлини. Існує цілий комплекс інших молекул, які експресуються клітинами пухлини та утримують їх у первинному вогнищі, вони піддаються дії металопротеаз (колагеназ, еластаз тощо). Так, показано, що клітини МБ синтезують велику кількість металопротеаз, які руйнують міжклітинні адгезивні зв'язки — це ще одна з несприятливих прогностичних ознак, що свідчить про високий метастатичний потенціал МБ. Отже, незважаючи на певну подібність МБ в осіб різного віку, є й істотні відмінності як в експресії рецепторів, так і наявності молекул адгезії у клітинах цих пухлин. Фенотипові маркери клітин МБ також опосередковано вказують на відмінності характеру генетичних порушень, різноманітні

етіологічні чинники і, можливо, різні механізми індукції та подальшого росту пухлин. Дані клінічного дослідження підтверджують різний темп росту МБ, різну їх схильність до інфільтративного росту та метастазування, навіть в осіб однієї вікової групи. Виявлені фенотипові характеристики МБ важливі не тільки для розуміння різноманітності молекулярних порушень в їх клітинах, а й для клініки, де їх можна використовувати як предиктори. Експресія клітинами пухлини онкопротеїну Р-53 і рецептора до ІЛ-2 може бути предиктором чутливості новоутворення до ПТ і ХТ.

Таким чином, поряд з такими визнаними прогностичними ознаками як вміст СПК, апоптотичний індекс, експресія Ki-67, мутація гену р-53, на підставі отриманих результатів для характеристики та оцінки МБ можна рекомендувати й інші показники: рівень CD-34 клітин, експресія рецептора ІЛ-2 (CD-25), наявність NCAM молекул і рецептора апоптозу на клітинах пухлини. Завдяки різній експресії цих маркерів на клітинах МБ, вдалося визначити певні відмінності цих пухлин у дітей і дорослих, що має велике значення для розуміння як індукції і росту МБ, так і для уточнення їх клінічних проявів, зокрема, швидкості росту, метастазування.

Таким чином, результати проведених досліджень дозволяють зробити наступні висновки. У більшості МБ виявляють клітини, які містять ембріональний протеїн променін-1, що дозволяє вважати їх НСК, багато дослідників відносять їх до СПК, які відповідають за агресивний характер росту пухлини. В той же час, у МБ дорослих осіб СПК виявляють рідше і в дещо меншій кількості, ніж у дітей, з чим, ймовірно, пов'язаний більш доброякісний перебіг захворювання у дорослих. У МБ у пацієнтів чоловічої статі СПК виявляли вдвічі частіше, ніж у жіночої. СПК частіше виявляли у великих МБ (T₃–T₄M₀ за класифікацією Chang). Наявність СПК у МБ не залежала від їх гістологічного типу. Необхідно відзначити, що у хворих, у пухлинах яких виявляли СПК, проміжок часу між першою та повторною операціями був менший, ніж за відсутності СПК. Отже, наявність СПК у МБ може свідчити як про їх роль в індукції пухлин (здатність незмінених НСК

ГМ дорослих осіб трансформуватись або мутувати під дією різних онкогенних чинників у СПК і зумовлювати виникнення МБ у дорослих осіб), так і їх вплив на швидкість росту новоутворень і виникнення рецидивів. Так, у дітей МБ виникають наслідок генетичних мутацій клітин зернистого шару мозочку (тобто ембріональних НСК), у дорослих виникнення МБ може бути пов'язане з стовбуровими клітинами зрілого ГМ. Можливо, біологічні властивості ембріональних і дорослих стовбурових клітин пояснюють особливості та відмінності МБ у дітей і дорослих. Відкритим залишається питання про виникнення у мозочку дорослих осіб стовбурових клітин, про те, в якому місці і яким чином відбувається їх онкотрансформація у СПК (це можливе у так званих «нішах», де зберігаються незмінні стовбурові клітини, або безпосередньо в мозочку, куди стовбурові клітини потрапляють з таких «ніш»). Дотепер не виявлені специфічні маркери, за допомогою яких можна відрізнити незмінні НСК і СПК, які містяться в тканині МБ; проте, згідно експериментальних даних, у пухлинах, в основному, виявляють трансформовані пухлинні клітини, які відповідають за агресивний характер росту новоутворення, його резистентність до ПТ і ХТ. У МБ, крім СПК, виявлені гемопоетичні стовбурові клітини (CD-34⁺), які беруть участь у формуванні мережі судин у пухлині або, за певних умов, здатні трансформуватись у СПК. Виявлені кількісні відмінності в експресії певних фенотипових молекулярних маркерів у МБ дітей і дорослих осіб, що свідчить про відмінності цих пухлин.

Отже, наявність і вміст СПК і гемопоетичних стовбурових клітин у тканині МБ дорослих вказує на один з можливих шляхів їх виникнення, а експресія інших молекулярних маркерів характеризує біологічні властивості цих пухлин, які, ймовірно, дозволять прогнозувати наслідки захворювання, рекомендувати використання певних методик лікування. Молекулярні маркери активації, апоптозу, адгезії, експресії протеїну Р-53 на мембранах клітин МБ характеризують активність конкретної пухлини. Крім того,

порівняльне дослідження МБ у дорослих і дітей показало, що існують вікові відмінності експресії зазначених молекулярних маркерів.

РОЗДІЛ 5

ГЕРПЕСВІРУСНА КОНТАМІНАЦІЯ МЕДУЛОБЛАСТОМ ДОРΟΣЛИХ ОСІБ

Останніми роками, як відмічалось в огляді літератури, збільшився інтерес нейроонкологів до одного з представників герпесвірусів, а саме ЦМВ. Немає єдиної думки про його вплив як на індукцію, так і злоякісність пухлин. У 2011 р. у Нью-Йорку відбувся спеціальний спільний симпозиум нейроонкологів і вірусологів, на якому було запропоновано «консенсусну» точку зору, яка зводилася до необхідності подальшого дослідження та визначення як умов накопичення вірусу, так і його ролі у виникненні пухлин мозку. Через наявність різних поглядів щодо ролі ЦМВ у патогенезі злоякісних пухлин, ми провели кілька досліджень, спрямованих на виявлення цього вірусу не лише у МБ, а й інших пухлинах ГМ.

При вивченні вірусної контамінації пухлин ГМ, важливим є визначення герпесвірусів, які виявляють найчастіше. У нашому дослідженні ми визначали 5 герпесвірусів: 1/2 типів, вірус Епштейна–Барр (4 типу), ЦМВ (5 типу), герпесвіруси 7 і 8 типів за допомогою комерційних наборів фірм «Амплісенс» та «ДНК-технологія» (Росія). Реакцію визначення вірусної персистенції в тканинах пухлин проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) з електрофоретичною реєстрацією на обладнанні фірми ДНК-технологія» (Росія), та на апліфікаторі фірми «BioRad» (США) у реальному часі. Вивчені 88 зразків внутрішньомозкових пухлин, 11 — позамозкових, 4 зразки речовини ГМ. Тканину пухлин забирали для дослідження через 2–3 год після операції. ДНК виділяли за протоколами, рекомендованими фірмою-виробником реактивів.

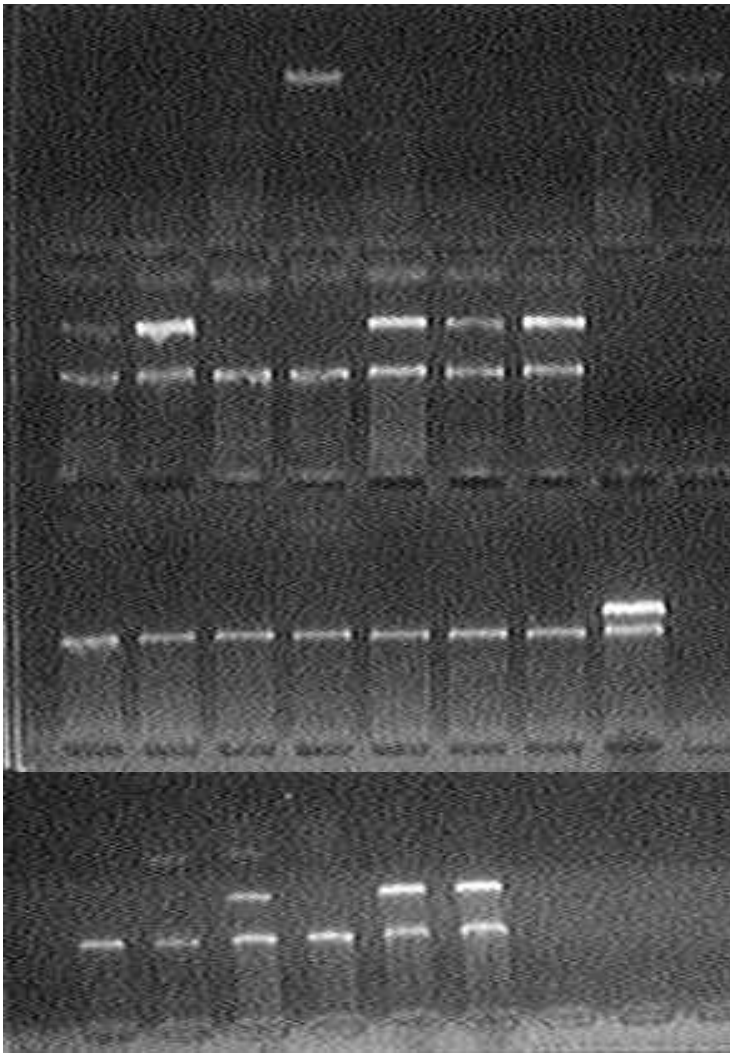


Рис 5.1 Результати ПЛР з електрофоретичною рестрацією визначення в пухлинному матеріалі вірусів герпесної групи.

1 ряд - визначення вірусу герпесу 7 типу (4-зразок позитивний, крайній з правої сторони контрольний позитивний зразок); 2 ряд - вірус Епштейна –Барр (1,2,5,6 зразки позитивні, крайній з правої сторони контрольний позитивний зразок); 3 ряд- герпес 1/2 типу (всі зразки негативні, крайній з правої сторони контрольний позитивний зразок); 4 ряд – ЦМВ (3,5 зразки позитивні , крайній з правої сторони контрольний позитивний зразок) Набори проти герпесвірусів 1/2 типу ЦМВ та вірус Епштейна –Барр мають внутрішні контролю, які знаходяться ближче до старту, набір герпесу 7 типу випускається без внутрішнього контролю .

В табл. 5.1 наведені дані щодо забруднення герпесвірусами зразків тканини пухлин. Частота виявлення герпесвірусів у тканині пухлин виявилася різною: найчастіше виявляли ЦМВ і вірус Епштейна–Барр (відповідно у 47,72 і 43,18% спостережень), решту герпесвірусів — досить

рідко (у 6–10% спостережень). У позамозкових пухлинах (9 менінгіом і 2 невриноми) герпесвіруси виявлені лише у 3 спостереженнях. У речовині ГМ вірус герпесу 4 типу виявлений (в 1 з 4 спостережень).

Таблиця 5.1.

Частота виявлення герпесвірусів у тканині пухлин ГМ.

Пухлини	Герпесвіруси									
	1/2 типів		4 типу (Епштейна– Барр)		5 типу (ЦМВ)		7 типу		8 типу	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Внутрішньомозкові (n=88)	3	6,25	38	43,18*	42	47,7	4	9,3	1	2,3
Позамозкові (n=11)	—	—	1	9,09	2	18	—	—	—	—

Примітка. * — відмінності показників достовірні у зразках тканин пухлин, що містили вірус Епштейна–Барр і ЦМВ порівняно з позамозковими пухлинами та тими, що містили герпесвіруси інших типів ($p < 0,05$).

Результати проведених нами досліджень відповідають даним літератури стосовно того, що у внутрішньомозкових пухлинах найчастіше виявляють ЦМВ. У позамозкових пухлинах герпесвіруси виявляють досить рідко, тобто ці віруси тропні до внутрішньомозкових новоутворень, зокрема, гліальних. У внутрішньомозкових пухлинах майже однаково часто виявляли віруси герпесу 4 і 5 типів. Майже у 50% зразків внутрішньомозкових пухлин виявлені 2 герпесвіруси — Епштейна–Барр і ЦМВ. Тоді як, інші віруси, а саме герпес 1-2 типу, 7 та 8 типів практично відсутні в пухлинних вогнищах.

За даними літератури і наших досліджень, ЦМВ зазвичай виявляли у зразках пухлин III–IV ступеня анаплазії, на відміну від доброякісних внутрішньомозкових пухлин. Одним з завдань нашого дослідження було визначення вірусної контамінації МБ у хворих різного віку. Досліджені 42

зразки МБ дорослих осіб, які зберігали у парафінових блоках в архіві відділу нейропатоморфології Інституту. З кожного блока робили 2–3 гістологічні зрізи, з яких виділяли ДНК для ПЛР з електрофоретичною реєстрацією. Також (для порівняння) за допомогою ПЛР досліджені 15 зразків МБ дітей, оперованих в Інституті у 2012–2013 рр. Результати наведені у табл. 5.2.

Таблиця 5.2.

Частота виявлення герпесвірусів у зразках МБ дітей і дорослих методом ПЛР з електрофоретичною реєстрацією.

Зразки пухлин	Герпесвіруси							
	1/2 типів		4 типу (Епштейна–Барр)		5 типу (ЦМВ)		7 типу	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Дорослих (n=42)	2	4,76	10	23,8	14	33,33	3	7,14
Дітей (n=15)	—	—	4	26,67	3	20	—	—

Вірусна контамінація тканини МБ виявлена у 69,0% досліджених зразків дорослих та 46,6% досліджених зразків у дітей. У зразках пухлин як дітей, так і дорослих, найчастіше виявляли віруси Епштейна–Барр і ЦМВ, решту герпесвірусів — дуже рідко. ЦМВ у пухлинах дорослих виявляли значно частіше, ніж у дітей, вірус Епштейна–Барр — майже з однаковою частотою. Отже, у тканині МБ, незалежно від віку пацієнтів виявляли ЦМВ і вірус Епштейна–Барр. Крім того, оскільки віруси визначали у гістологічних препаратах пухлин, які пройшли повну гістологічну обробку і зберігалися тривалий час, можна думати що вміст означених вірусів у них досить високий.

Одне з пояснень наявності ЦМВ у тканині пухлин, його активації та селективного накопичення у пухлинному вогнищі пов'язане, в першу чергу, з ослабленням захисту організму від вірусів внаслідок порушень імунітету при рості злоякісних новоутворень, продукції ними певних супресивних чинників, які вибірково пригнічують імунітет до ЦМВ. Доказів «за» і «проти» таких припущень у літературі досить мало, що спонукало нас провести додаткові дослідження для визначення стану протівірусного імунітету до ЦМВ за рівнем Ig M і G у сироватці крові хворих та порівняти з рівнем Ig M і G антитіл до вірусу простого герпесу.

Нами було проведено дослідження сироваток крові 3 груп хворих, а саме нейроонкологічних, неврологічних хворих з різними хронічними запальними захворюваннями нервової системи, та групи порівняння, групи жінок з урогенітальними захворюваннями, які обстежувались за підозрою на наявність у них ЦМВ та герпес-вірусів. Досліджені зразки сироватки крові дорослих пацієнтів при різних внутрішньомозкових пухлинах, які були оперовані Інституті нейрохірургії. Периферійну кров для дослідження забирали перед операцією під час загальних гематологічних обстежень.. Рівень IgM і IgG проти ЦМВ і вірусу герпесу 1 і 2 типів визначали у сироватці крові хворих з використанням стандартних наборів для імуноферментного аналізу фірми «Вектор-Бест» (Росія).

Паралельно з визначенням титру антитіл до ЦМВ досліджували для порівняння рівень антитіл до герпесу 1/2 типів. Крім того рівень антитіл до вірусу простого герпесу (ВПГ) може говорити про наявність порушень в імунній системі, про вторинний імунодефіцит. Проведені дослідження 169 зразків сироватки крові хворих нейроонкологічними, хронічними неврологічними і урогінекологічними захворюваннями на зміст антитіл до ЦМВ і ВПГ 1/2 типи дозволили встановити (таблиця.5.3) що в цілому у дорослого населення виявляються антитіла до цих вірусів з великою частотою від 68 до 90%, що, загалом, відповідає даним літератури. В той же час виявлені особливості в рівні антитіл в залежності від характеру патології.

Так, антитіла до ВПГ найчастіше виявлялися в групі хронічних неврологічних хворих, що складало 82%, тоді як при нейроонкологічних захворюваннях в 71% та дещо нижче у хворих з урогінекологічними захворюваннями – 68 %. Статистично значущі відмінності в частоті проявів інфікування цими вірусами були лише між групою неврологічних хворих і групою онкологічних і гінекологічних захворювань. При аналізі частоти виявлення позитивного рівня антитіл ЦМВ був встановлений дещо інший розподіл між цими видами патології.

Таблиця 5.3.

Частота виявлення антитіл до вірусів герпеса 1/2 типу і ЦМВ та їх рівень у обстежених груп хворих

Групи хворих	Віруси герпеса 1/2 типу		ЦМВ	
	Частота (%)	Титр АТ (у.о.)	Частота (%)	Титр АТ (у.о.)
Нейроонкологічні захворювання n=69	71,3	1,26±0,08	91,3*	1,557±0,08*
Хронічні хвороби нервової системи n=50	82,3*	0,92±0,104*	76,4	0,371±0,03
Урогегінекологічні захворювання n=50	68,4	1,61±0,113	64,1	0,40±0,026

* - вірогідні відмінності між данною та іншими групами хворих (P<0,05)

Найчастіше у 91,3% осіб антитіла до ЦМВ виявлялися в нейроонкологічних хворих, потім з хронічними нервовими захворюваннями у 76%, менше всього антитіла виявлялися в групі хворих з гінекологічними захворюваннями, всього 64% спостережень.

Необхідно відмітити той факт, що відсоток осіб з позитивними рівнями антитіл до ВПГ при неврологічних і гінекологічних захворюваннях був вищий, ніж до ЦМВ. В той же час при нейроонкологічних захворюваннях і, навпаки, число осіб з позитивним рівнем антитіл до ЦМВ було на 20% вище, як до ВПГ, що побічно вказує на велику поширеність ЦМВ інфекції у нейроонкологічних хворих. Рівень антитіл класів М і G до цих вірусів в сироватках крові також між собою відрізнявся. Так, антитіла класу М до ВПГ були виявлені лише у 3 з 50 пацієнтів з урогінекологічною патологією. У інших групах хворих антитіла класу М як до ВПГ, так і до ЦМВ не визначалися, що дозволяє стверджувати, що у цих хворих були відсутні ознаки гострою герпес вірусної інфекції, а є лише свідчення перенесення цих інфекцій раніше в прихованій або латентній формі захворювання. Рівні антивірусних антитіл класу G були різні і залежали від патології та від виду вірусу. Так, найбільший рівень антитіл до ВПГ визначався в групі пацієнтів з гінекологічною патологією, дещо менше у нейроонкологічних хворих і найменший рівень був у хворих неврологічного профілю, що, загалом, можна пояснити тим, що в першій групі були присутніми пацієнти з рецидивуючими формами статевого герпесу і це позначилось більш високим майже 2 рази вищим рівнем антитіл до ВПГ в порівнянні з групою хворих на неврологічні захворювання. Вміст антитіл до ЦМВ класу IgG в крові відрізнявся від рівнів антитіл ВПГ у цих групах хворих. Так, найбільший рівень ЦМВ антитіл був в групі нейроонкохворих, який в 3-4 рази перевищував рівень цих же антитіл в інших групах хворих. Окрім цього, у хворих з пухлинами мозку рівень анти ЦМВ антитіл був вищий за рівень антитіл до ВПГ, тоді як в інших групах хворих, навпаки, рівень анти ЦМВ антитіл був нижчий рівня анти ВПГ антитіл. Отже, лише в групі

нейроонкологічних хворих відзначається найбільший високий статистично значущий вміст антитіл до ЦМВ в крові, крім того, в цій групі хворих більше 90% пацієнтів мали в крові антитіла до цього вірусу, що вказує на значну інфікованість ЦМВ онкохворих, та досить активну імунну відповідь організму хворих на цю інфекцію. Усе це дозволяє вважати, що ЦМВ має більше поширення в нейроонкологічних хворих, тоді як інший споріднений вірус - ВПГ в цій групі хворих зустрічається рідше, ніж в групі неврологічних хворих і рівень його антитіл був нижчий, ніж в групі хворих з гінекологічними захворюваннями.

Рівень IgG до ЦМВ і вірусу герпесу 1 і 2 типів у сироватці крові хворих при пухлинах ГМ залежав від ступеня їх анаплазії (табл. 5.4).

Таблиця 5.4.

Рівень антитіл до ЦМВ, вірусу Епштейна–Барр та вірусу герпесу 1 і 2 типів у сироватці крові хворих при пухлинах ГМ різного ступеня анаплазії

Тип герпес-вірусів	Рівень антитіл у тканині пухлин ГМ (у.о.)				
	ГБ (n=14)	Астроцитоми		Метастатичні пухлини (n=9)	Інші пухлини ГМ (n=9)
		Анапластичні (n=12)	I-II ступеня анаплазії (n=8)		
ЦМВ	1,71± 0,16	1,63± 0,17	0,86± 0,23*	1,86± 0,31	1,18± 0,29
Вірус герпесу 1 і 2 типів	0,96± 0,22	1,09± 0,15	0,41± 0,21*	1,25± 0,21	0,83± 0,28
Вірус Епштейна–Барр	40,9± 23,4	36,2± 22,0	37,7± 31,5		55,33± 23,1

Примітка. * — відмінності показників між астроцитарними пухлинами I–II і III–IV ступеня анаплазії достовірні ($p < 0,05$).

Так, високі і приблизно однакові рівні антитіл до ЦМВ визначали при ГБ, анапластичних астроцитомах, метастатичних пухлинах ГМ, натомість при доброякісних астроцитомах рівень антитіл до ЦМВ був у 2 рази нижчим ($p < 0,05$). У хворих при аденомах гіпофіза, менінгіомах та інших пухлинах ГМ рівень антитіл до ЦМВ був низьким, хоча дещо вищим, ніж при астроцитомах I-II ступеня анаплазії.

Рівень антитіл до вірусу герпесу 1 і 2 типів у сироватці хворих усіх груп був нижчим, ніж до ЦМВ. Найбільший рівень антитіл до вірусу простого герпесу спостерігали - при злякисних пухлинах, найменший — при доброякісних ($p < 0,05$).

Визначення рівня антитіл до вірусу Епштейна–Барр у сироватках крові хворих з різними пухлинами головного мозку показало, що достовірних відмінностей в концентрації антитіл у крові не виявлено ($p > 0,05$). В той же час можна говорити лише про певну тенденцію в коливанні показників концентрації антитіл вірусу Епштейна–Барр. Так найменший рівень антитіл був в крові пацієнтів з гліомами I–II ст. анаплазії, тоді як при гліобластомах (4 ст. анаплазії) рівень антитіл в крові був дещо вищий, тобто пригнічення гуморального імунітету нами не було виявлено. Найбільший рівень антитіл був у хворих з доброякісними пухлинам, які увійшли в групу «інших пухлин», хоча статистично достовірних відмінностей між показниками рівня антитіл немає. Нами виявлено досить великі рівні антитіл у крові цих хворих, а це свідчить як про відсутність гальмування імунних реакцій (імуносупресії), так і перенесення хворими раніше латентної інфекції, яке могло привести до попадання вірусу в пухлинне вогнище. Динаміка рівня антитіл до вірусу Епштейна–Барр відрізняється від динаміки антитіл до ЦМВ, що може свідчити про різну їх роль в патогенезі розвитку пухлин головного мозку.

Таким чином, у сироватці крові хворих при внутрішньомозкових пухлинах рівень антитіл до герпесвірусів досить високий, особливо до ЦМВ і герпесвірусу 1/2 типів, тобто у нейроонкологічних хворих немає вибіркового пригнічення імунітету до цього вірусу. Крім того, високі рівні антитіл до ЦМВ дозволяють думати, що у таких хворих відбувається прихована латентна активація ЦМВ-інфекції. Досить високий рівень антитіл до вірусу герпесу 1 і 2 типів свідчить про те, що ця інфекція приховано активується на тлі активної гуморальної імунної противірусної відповіді. Тобто, у нейроонкологічних хворих загальна і селективна противірусна імуносупресія відсутня, про що свідчать високі рівні противірусних антитіл. Однак не виключено, що при цьому пригнічується клітинна ланка противірусного імунітету. Проведенні дослідження показали, що при злоякісних пухлинах рівень антитіл до ЦМВ і вірусу герпесу 1 і 2 типів значно вищий, ніж при доброякісних, що підтверджує думку про латентну активацію вірусів і їх накопичення у пухлинному вогнищі. Все це зумовлює необхідність подальшого вірусологічного вивчення тканини пухлин, вирішення питання про спонтанне або екзотичне вірусне забруднення, визначення важливості ролі вірусної інфекції у виникненні та рості новоутворень.

Дані, які приведені в огляді літератури, щодо вірусної контамінації пухлин суперечливі. Одні дослідники виявляють ці віруси у більшості пухлин, інші — досить рідко або взагалі не виявляють. Такі розбіжності можна пояснити впливом багатьох чинників, проте, основним моментом є чутливість методу дослідження, а саме: ПЛР, імунофлуоресценції, ІГХ та ін. Найчастіше вірусну ДНК виявляють за допомогою ПЛР, цю реакцію вважають найбільш специфічною та чутливою, її позитивні результати є беззаперечним доказом наявності життєздатного вірусу в об'єкті, який досліджують. Однак існує багато варіантів методики ПЛР, від простої, з визначенням вірусної ДНК методом електрофорезу в агарозному гелі, до ПЛР у реальному часі на автоматичному приладі, за допомогою якої

визначають кількість вірусної ДНК у зразку тканини. Ймовірно, використання різних методик виявлення герпесвірусів спричиняє розбіжності визначення частоти інфікування ними пухлин.

В нашій роботі для визначення ДНК герпесвірусів у 42 зразках тканини МБ дорослих на першому етапі використовували ПЛР з електрофоретичним визначенням вірусів, на більш пізньому етапі — ПЛР у реальному часі на автоматичному приладі фірми “BioRad” (США) (рис 5.2.; 5.3) Виявлена ДНК герпесвірусів трьох типів: 1/2 типу, 4 і 5 типів (табл. 5.5).

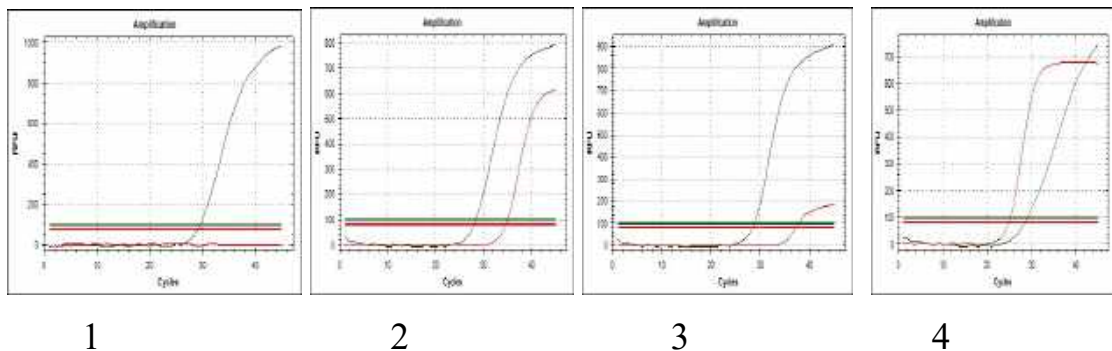


Рис 5.2 Графіки визначення ВЕБ методом ПЦР реального часу (Real Time PCR) 1.- негативний зразок 2.- позитивний зразок великою кількістю вірусу 3.- позитивний зразок малою кількістю вірусу 4. - контрольний позитивний зразок із набору

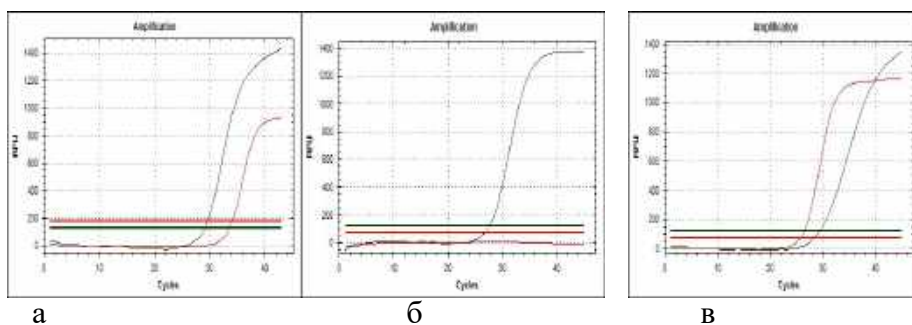


Рис 5.3 Визначення вірусу Епштейна-Барр методом реального часу (Real Time PCR) а) зразок позитивний; б) зразок негативний, в) контрольний позитивний зразок із набору

Таблиця 5.5.

Частота виявлення герпесвірусів у тканині МБ дорослих за допомогою різних методик ПЛР.

Герпесвірус	ПЛР			
	електрофоретична		у реальному часі	
	абс.	%	абс.	%
Вірус герпесу 1 і 2 типів	2	4,76*	1	3,13*
Вірус Епштейна–Барр	10	23,8	20	47,62**
ЦМВ	14	33,83	22	52,38**

Примітка.* — відмінності показників статистично значущі при порівнянні частоти виявлення вірусу герпесу 1/2 типу порівняно з іншими герпесвірусами ($p < 0,01$); ** — відмінності показників статистично значущі при порівнянні частоти виявлення вірусу Епштейна–Барр та ЦМВ різними методами ($p < 0,05$).

Так, при застосуванні більш чутливого методу дослідження герпесвіруси виявляли частіше, зокрема, вірус Епштейна–Барр - у 2 рази. ЦМВ також частіше виявляли у зразках тканини МБ при використанні ПЛР у реальному часі, визначені відмінності показників достовірні.

В той же час звертає на себе увагу той факт, що практично половина пухлин не містить в собі вірусів, тоді як по деяких джерелах в МБ та гліомах головного мозку ЦМВ виявляється зрізною частотою від 32 до 85 % відсотків. Аналіз цих даних дозволив установити, що результат ПЛР реакції також залежить від використання в реакції фрагментів того чи іншого гену ЦМВ. Найбільш високі результати отримувались при використанні в ПЛР праймерів ІЕ гену, який відноситься до суперранніх генів вірусів, що добре експресований у тканинах при їх інфікуванні ЦМВ. В подальшій роботі нами були використані праймери для цього гену і поставлена ПЛР в реальному часі з раніше обстеженими зразками пухлин. Проведеними дослідженнями встановлено, що при використанні праймерів до ІЕ гену ЦМВ виявляються віруси у 23 зразках із 33 досліджених, що у 1,3% рази більше ніж при

використанні комерційних праймерів наборів ООО «ДНК Технологія», у яких використовуються праймери до невідомих нам генів ЦМВ.

Проведені порівняльні дослідження різними методами ПЛР та із різними праймерами дозволяють пояснити розбіжності даних літератури про частоту інфікування ЦМВ пухлин, чим більш високотехнологічна та сучасніша методика, в даному випадку ПЛР в реальному часі, чим ширше арсенал праймерів до різних генів ЦМВ, тим у більшому відсотку пухлин виявляється цей вірус.

Таким чином, результати визначення наявності вірусів у тканині пухлин певною мірою залежать від методу дослідження, та «праймерів» відповідних генів вірусів чим, можливо, пояснюються розбіжності даних літератури з цього питання.

У МБ дорослих, крім ЦМВ, виявляють вірус Епштейна–Барр, якому притаманна значна нейротропність (його відносять до нейроінфекційної групи вірусів), а також певні онкогенні властивості (здатність спричиняти виникнення карциному гортані, різні варіанти лімфом), не виключено, що він також має відношення до запуску злоякісного росту МБ у дорослих осіб. Натомість інші герпесвіруси, зокрема, 1/2 і 7 типів у тканині МБ виявляють дуже рідко, можна сказати, випадково. Так, у нашому дослідженні герпесвірус 1/2 типу виявлений лише в 1 з 42 спостережень, 7 типу — у 3 випадках. Наявність цих вірусів у тканині МБ можна пояснити тим, що у хворих могла активуватися латентна інфекція, що спричинило віремію, віруси могли зберегтися у судинах пухлини і були виявлені випадково, проте, ці питання потребують подальших досліджень. При виявленні у тканині МБ не одного, а двох герпесвірусів постають інші питання: як часто ці віруси виявляють одночасно, як часто — окремо.

Важливим для розуміння патогенезу МБ у дорослих є те, що у тканині МБ виявляли ДНК двох герпесвірусів: 4 і 5 типів. В доступній нам науковій літературі немає підтвердження того, що одночасно з ЦМВ (який не вважають онкогенним) виявляють інший герпесвірус, а саме вірус

Епштейна–Барр (який є онкогенним). Не виключено, що ці віруси, особливо вірус Епштейна–Барр можуть зустрічатись і в інших пухлинах як головного мозку, так і інших органів і це не є виключна властивість МБ дорослих.

В табл. 5.6 наведені дані про частоту та характер вірусної контамінації тканини МБ дорослих осіб.

Таблиця 5.6.

Частота та характер вірусної контамінації тканини МБ дорослих осіб.

Вірусна контамінація	Частота виявлення	
	абс.	%
Вірус Епштейна–Барр	5	11,9
ЦМВ	5	11,9
Поєднана (герпесвіруси 4 і 5 типів)	19	45,24
Не виявлена	13	30,95
Всього	42	100

За допомогою ПЛР у реальному часі (з використанням набору фірми «ДНК-технология» (Росія), дворазова постановки реакції для запобігання хибних результатів) у 19 (45.24%) з 42 зразків тканини пухлин виявлено по два герпесвіруси 45,24%. Таким чином, 1 герпесвірус наявний в 11,9% досліджених МБ, 2 герпесвіруси одночасно — у 45%, віруси відсутні — у 31%.

Усі МБ можна умовно розподілити на 4 групи: 1) ті, в яких виявляли вірус Епштейна–Барр, 2) ті, в яких виявляли ЦМВ, 3) ті, в яких виявлена поєднана інфекція (герпесвіруси 4 і 5 типів), 4) ті, в яких герпесвіруси не виявлені. Проте, у клініці, перебіг захворювання не пов'язаний з такими варіантами МБ.

Вірус Епштейна–Барр виявлений у тканині МБ 12 чоловіків і 8 жінок, вік хворих у середньому становив $(27,2 \pm 1,63)$ року; ЦМВ — у 13 чоловіків і 9 жінок, вік хворих у середньому $(27,3 \pm 1,6)$ року; герпесвіруси 4 і 5 типів одночасно — у 9 чоловіків і 10 жінок, вік пацієнтів у середньому $(27 \pm 2,10)$ року; герпесвіруси не виявлені у тканині МБ 8 чоловіків і 5 жінок, вік хворих у середньому $(26,96 \pm 1,43)$ року, відмінності показників у групах недостовірні.

На основі отриманих даних можна зазначити, що вірусна контамінація тканини пухлин практично не залежить від статі й віку хворих. В той же час, по 2 герпесвіруси одночасно тканині МБ виявлені у 33% хворих старше 30 років. Ймовірно, інфікування як мінімум двома вірусами є одною з передумов для виникнення МБ у хворих віком 30–50 років, що ми спостерігали у 6 з 19 випадків. Хоча, це положення потребує більш детального вивчення, оскільки у тканині пухлин хворих віком від 20 до 26 років також одночасно виявляли 2 герпесвіруси. У групі хворих з вірусом Епштейна–Барр в пухлинах з 20 хворих було 3 у віці 17-20 років і лише один у віці 42 роки та один у віці 52 роки.

Ми також проаналізували стадіювання пухлин з вірусною контамінацією за класифікацією Chang. Більшість пухлин відносились до стадій $T_{3a}M_0$ або $T_{3b}M_0$. Розмір 20 МБ, які містили вірус Епштейна–Барр, становив у середньому $(4,22 \pm 0,23)$ см; 22 МБ, які містили ЦМВ, — $(4,04 \pm 0,31)$ см; 19 пухлин, контамінованих поєднанням ВЕБ і ЦМВ — $(4,17 \pm 0,11)$ см; 13 МБ, у яких герпесвіруси не виявлені, — $(3,89 \pm 0,22)$ см. Розмір пухлин, з контамінацією вірусом Епштейна–Барр, за даними КТ був дещо більшим. Статистично значущі відмінності показників у групах не виявлені ($p > 0,05$). В той же час, пухлини, в яких віруси не виявляли, мали менші розміри. У 10 з 42 хворих з контамінацією ЦМВ або вірусом Епштейна–Барр в подальшому відзначали метастазування МБ хребтовому каналу.

При аналізі гістологічної структури пухлин цих чотирьох груп встановлено (табл. 5.7), що віруси частіше зустрічаються при

десмопластичному варіанті пухлин, так 93,4% пухлин цього гістотипу мали вірусне інфікування і лише 6,6% пухлин не мали вірусів. Класичний гістологічний тип пухлин, навпаки, в більшості випадків (68,6%) не містив в собі вірусів. Вірус Епштейна–Барр у цьому гістологічному варіанті пухлин зустрічався у 15,4% випадків. В пухлинах з анапластичним типом частіше визначалась контамінація 2-ма вірусами.

Проведений вище аналіз показує, що має місце певна різниця між пухлинами з вірусною контамінацією та пухлинами без неї, а саме в перевазі десмопластичного типу пухлин при наявності контамінації, а також присутність одночасно двох вірусів частіше спостерігалась у пухлин з анапластичною структурою.

Таблиця 5.7.

Частота виявлення герпесвірусів у МБ різних гістологічних варіантів.

Гістологічний варіант МБ		Частота виявлення герпесвірусів, %			Герпесвіруси не виявлені, %
		Епштейна–Барр	ЦМВ	Епштейна–Барр + ЦМВ	
Класичний		15,4	8,0	8,0	68,6*
Десмопластичний		28,6	33,4	31,4	6,6*
Анапластичний		18,4	20,6	50,4	10,6
Диференціювання	епендимарне	14,3	—	—	6,6
	гліальне	14,3	—	—	6,6
	нейрональне	14,3	—	—	6,6

Примітка. * — відмінності показників достовірні при порівнянні з іншими групами даного гістологічного варіанту ($p < 0,05$);

При вивченні катамнезу хворих при МБ враховували тривалість їх життя без продовженого росту пухлини та виникнення метастазів. За продовженого росту МБ рекомендоване повторне хірургічне втручання або ПТ.

Результати дослідження тривалості безрецидивного періоду без ознак продовженого росту показані в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8.

Середня тривалість життя хворих без продовженого росту медулобластом в залежності від вірусної контамінації.

	Характер вірусного забруднення			Без вірусів
	ЦМВ+ВЕБ	ЦМВ	ВЕБ	
M±m	21,88±7,38*	23,38±3,33*	29,44±11,07	44,00±8,64

Примітка. * - вірогідні відмінності від групи хворих без вірусної контамінації пухлин $P < 0,05$.

Безрецидивний період при МБ без вірусної контамінації становив у середньому (44,0±8,64) міс, при виявленні у тканині пухлини вірусу Епштейна–Барр — (29,44±11,07) міс, ЦМВ — (23,38±3,33) міс, одночасно двох герпесвірусів (4 і 5 типу) — (21,88±7,38) міс; відмінності показників при ЦМВ і поєднаній вірусній контамінації достовірні порівняно з такими за відсутності вірусів у тканині МБ ($p < 0,05$). Спостерігається скорочення безрецидивного періоду при вірусній контамінації пухлин. За наявності у тканині пухлини двох герпесвірусів безрецидивний період більш короткий, ніж за наявності одного вірусу. Окрема ЦМВ-контамінація пухлин також сприяє більш швидкому виникненню рецидиву захворювання, хоча дані статистично недостовірні.

Отже, підсумовуючі проведені дослідження, можна сказати, що майже у 70 % МБ дорослих виявляються два герпесвіруси — Епштейна–Барр і ЦМВ

або одночасно, або окремо. Також інколи (в 1–7% спостережень) виявляють герпесвіруси інших типів: 1/2 та 7. Частота виявлення герпесвірусів у тканині пухлини залежить від чутливості методу, тестування певних генів і праймерів. Так, за допомогою ПЛР у реальному часі герпесвіруси 4 і 5 типів у тканині пухлин виявляють у 1,5–2 рази частіше. Тобто МБ у більшості дорослих осіб контаміновані герпесвірусами, зокрема, ЦМВ. МБ дорослих осіб, за наявності вірусної контамінації можна розподілити на 4 групи: 1) віруси у тканині пухлини відсутні; 2) наявність вірусу Епштейна–Барр; 3) наявність ЦМВ; 4) поєднана контамінація (герпесвіруси 4 і 5 типів). Причини виявлення певних герпесвірусів у тканині пухлин невідомі, існує багато різних припущень і гіпотез, зокрема, пригнічення в онкохворих імунітету, особливо противірусного, що призводить до активації латентних інфекцій або, навпаки, віруси пригнічують імунітет, що зумовлює прискорення росту пухлини, а сам вірус потрапляє в її тканину у стовбурових та імунних клітинах. Рівень антитіл до ЦМВ у сироватці крові нейроонкологічних хворих досить високий, і це не підтверджує гіпотезу про пригнічення противірусного імунітету. Отримані нами дані вказують на активацію латентної інфекції, яка може зумовлювати потрапляння вірусів у пухлинне вогнище.

Роль ЦМВ у виникненні пухлин ГМ спірна, але численні дані приведені в огляді літератури свідчать про те, що цей вірус зумовлює онкотрансформацію в культурі нервових клітин, його можна вважати однією з причин виникнення пухлин. Вірус Епштейна–Барр також вважають онкогенним, він спричиняє виникнення лімфоїдних та епітеліальних пухлин. Таким чином, герпесвіруси 4 і 5 типів (ВЕБ та ЦМВ) можуть спричинити або стимулювати виникнення МБ у дорослих. Молекулярні механізми їх впливу на незмінені НСК ГМ, що спричиняють їх онкотрансформацію, не вивчені; хоча існує інша думка: ці віруси самотійно або в поєднанні з іншими чинниками здатні спричинити трансформацію і мутацію певних груп

генів у незмінених диференційованих нервових клітинах, що зумовлює їх дедиференціювання, анаплазію і виникнення МБ.

Отже, контамінацію вірусом Епштейна–Барр і ЦМВ виявляють майже у 70% МБ дорослих осіб, ці герпесвіруси можуть бути як безпосередньою причиною виникнення цих пухлин, так і онкостимуляторами. Крім того, наявність вірусів у біопсійному матеріалі пухлин вказує на можливість використання противірусної терапії при комбінованому лікуванні таких хворих, хоча це питання потребує подальшого, детального вивчення.

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН В ГІСТОСТРУКТУРІ МЕДУЛОБЛАСТОМ ДОРΟΣЛИХ ОСІБ ПІСЛЯ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ

Серед нейроектодермальних пухлин МБ мозочка найбільш чутливі до ПТ, яка є обов'язковим компонентом протоколу комбінованого лікування хворих при МБ. Але, особливості променевого патоморфозу у МБ, на відміну від гліом ГМ, висвітлені лише в окремих публікаціях, основаних на небагатьох спостереженнях, до того ж, зазвичай вони присвячені МБ у дітей.

При оцінці ефективності ПТ за показниками променевого патоморфозу основну увагу дослідники приділяють МБ у дітей, які зазвичай є ембріональними високозлоякісними пухлинами ГМ з типовою супратенторіальною локалізацією — по середній лінії мозочка. Давно відзначена висока чутливість МБ дітей до ПТ.

Після ПТ і ХТ у тканині МБ у дітей відзначають пошкоджені клітини з ознаками каріопікнозу і каріорексису, клітинний поліморфізм (одно- і багатоядерні гігантські клітини — «променеві гіганти»), зниження мітотичної активності, виникнення вогнищ некрозу. Після ПТ у тканині МБ у дітей виявлені розростання сполучної тканини замісного характеру, часточкова будова пухлини, волокниста сполучна тканина з вогнищами кальцифікації [14, 275]. При оцінці ефективності мегавольтної терапії у комплексному лікуванні 87 дітей при МБ у тканині опромінених пухлин відзначали появу вогнищ некрозу і кальцинозу, «променевих гігантів», гіаліноз стінок судин, масивні розростання сполучної тканини, поширені безклітинні ділянки. На думку авторів, такі зміни у МБ у дітей після ПТ

сприяють сповільненню продовженого росту залишків пухлини, збільшенню тривалості життя хворих. Автори підкреслюють, що характер і вираженість індукованих деструктивних змін у тканині МБ залежали від дози опромінення.

Особливості променевого патоморфозу у тканині МБ у дорослих осіб на достатньому матеріалі не вивчалися. Це зумовлене невеликою частотою виявлення захворювання у дорослих, недостатнім вивченням гістобіологічних особливостей таких МБ. Публікації стосовно МБ у дорослих включають ретроспективні дослідження пухлин, зібраних за тривалий період часу, їх складно проаналізувати через використання різних терапевтичних підходів [17, 35].

Завданням цього фрагменту дослідження був патоморфологічний аналіз структурно-біологічних особливостей МБ у 24 дорослих хворих, яким після першої операції призначали курс ПТ згідно існуючих протоколів, і оперованих повторно через продовжений ріст пухлини.

Чоловіків було 12, віком від 20 до 42 років, жінок — 12, віком від 17 до 52 років.

Період часу між першою і повторними операціями, що характеризує проліферативну активність МБ під час продовженого росту, у дорослих пацієнтів коливався у широкому діапазоні: від 7–8 міс до 6–10 років. Період між першим і наступним хірургічними втручаннями у чоловіків при первинно діагностованій МБ становив 10 років, в 1 спостереженні — 27 років, у жінок, відповідно, від 6 років 8 міс до 24 років (в 1 спостереженні).

Ознаки променевого патоморфозу оцінювали у кожному спостереженні індивідуально, проведене порівняльне гістологічне дослідження структури МБ до і після ПТ згідно існуючих протоколів лікування.

Під час гістологічного дослідження тканини первинних МБ визначали особливості складу клітин пухлини, ознаки клітинного атипізму, загальну архітектоніку тканини пухлини, вивчали колонарні, пучкові і ритмічні структури, «бліді острівці», псевдорозетки Хоммера–Райта, наявність і

характер вогнищ некрозу, поширеність стромального компоненту і судинної мережі, особливості інвазивного вrostання клітин пухлини у речовину та оболонки ГМ. Детально проаналізовано прояви і переважну спрямованість диференціювання клітин МБ; за даними літератури, за наявності у МБ ознак астрогліального, епендимарного, рідше олігодендрогліального диференціювання клінічний перебіг захворювання більш сприятливий.

Велику увагу приділяють оцінці мітотичної активності у тканині МБ, оскільки популяція клітин, які діляться, є найбільш агресивною і певним чином відображає активність проліферації пухлини.

6.1. Морфологічні особливості гістоструктури інтактних МБ (матеріал першої операції)

За нашими даними, у тканині більшості з 24 МБ дорослих, видалених під час першої операції, переважала характерна щільноклітинна структура, що дозволило віднести такі МБ до класичного типу. У клінічних спостереженнях №1, 2, 10, 12, 15 переважна більшість клітин пухлини містили компактні гіперхромні ядра округлої або паличкоподібні форми і вузькі цитоплазматичні тіла (частіше уніполярні, характерні для клітин МБ з нейробластним диференціюванням). Подекуди такі клітини формували типові для МБ розетки а пучкові, колонарні або ритмічні структури (рис. 6.1.1).

У клінічному спостереженні №1 (хвора А-О, 37 років) у тканині МБ поряд з масивами клітин пухлини з компактними гіперхромними ядрами визначали протяжні ділянки, побудовані з клітин з більшими світлими округлими ядрами і тонкозернистою структурою хроматину. Вузькі цитоплазматичні тіла таких клітин продовжувались у короткі конусоподібні відростки (рис. 6.1.2).

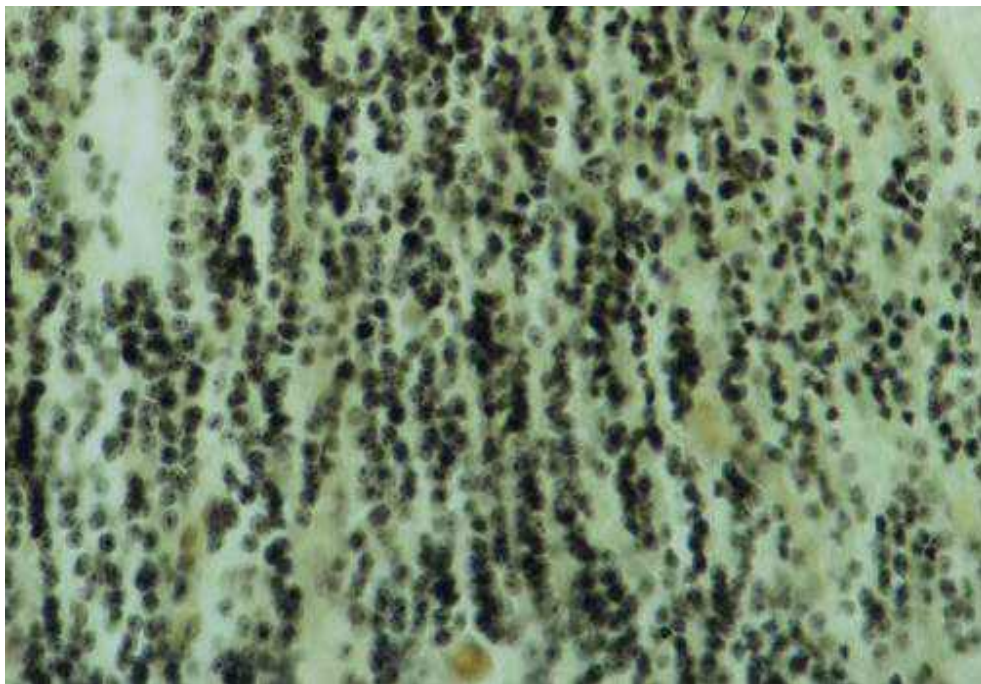


Рис. 6.1.1. Мікрофото. Клінічне спостереження №1 . Ритмічні колонарні структури у тканині первинної МБ. Забарвлення гематоксиліном і пікрофуксином за Ван Гізоном. Зб.×400.

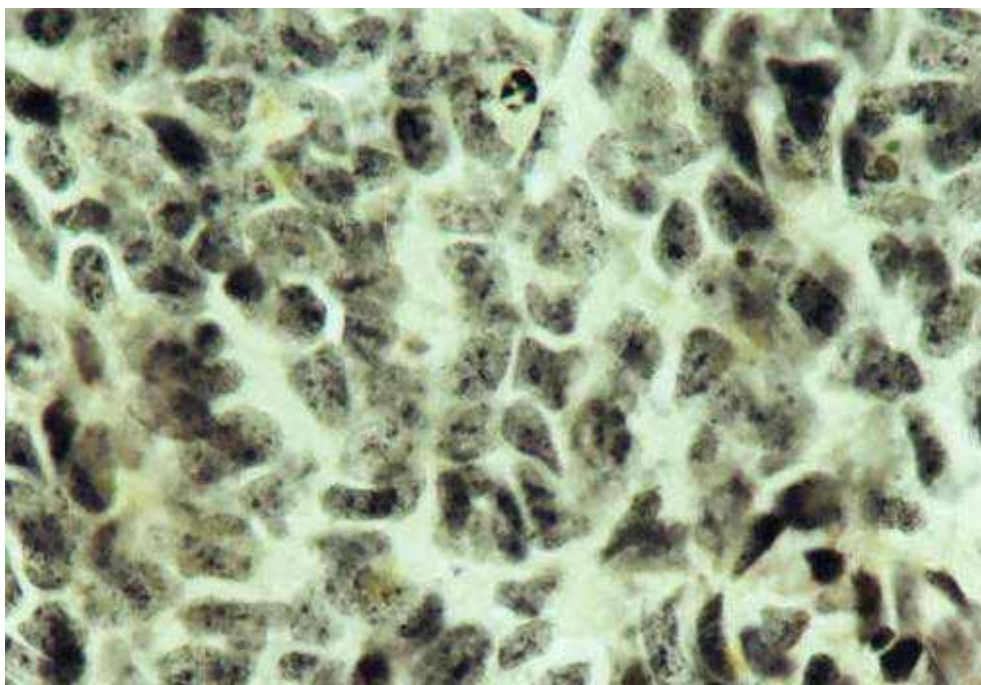
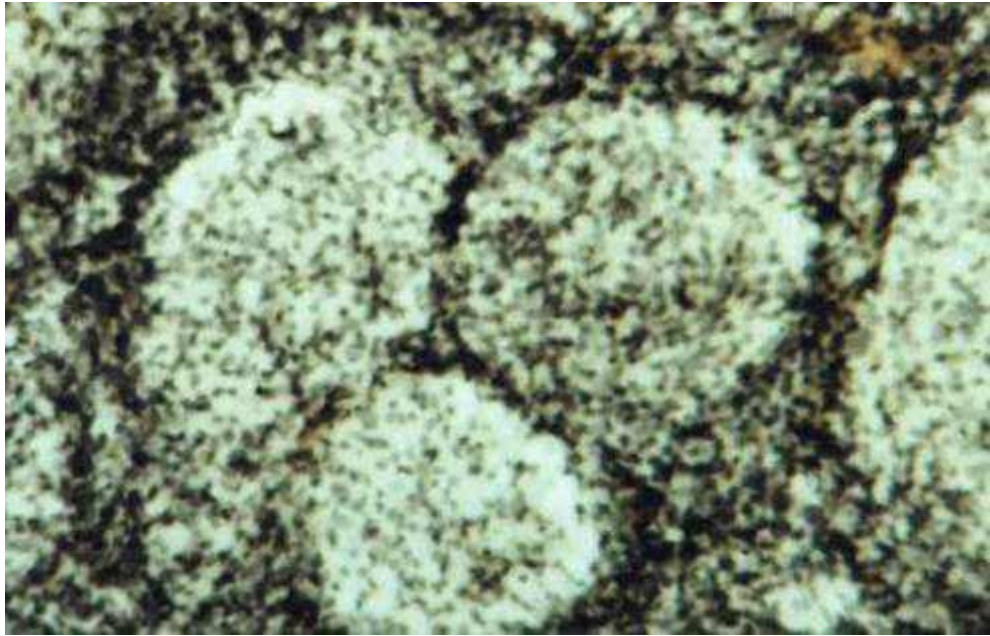
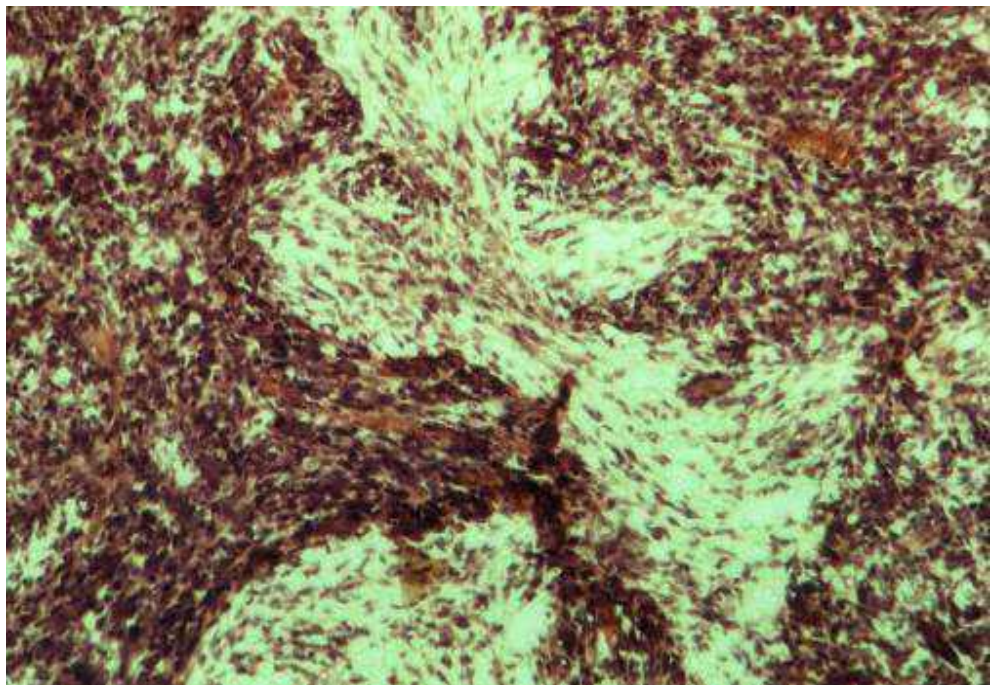


Рис. 6.1.2. Мікрофото. Клінічне спостереження №1. Клітини первинної МБ з світлими ядрами. Забарвлення гематокосиліном і пікрофуксином за Ван Гізоном. Зб.×800.

Аналогічні клінічні спостереження первинних МБ (№3, 4, 13, 17–20). Часто такі МБ формували характерні псевдорозетки Хоммера–Райта, які вважають проявом нейробластного диференціювання.



А



Б

Рис. 6.1.3. Мікрофото. Клінічне спостереження №14. Десмопластичний / вузловий варіант МБ. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. А — 36.×100; Б — 36.×200.

Тип будови первинних МБ у 4 спостереженнях визначений як десмопластичний / вузловий, для нього характерні округлі компактні комплекси світлоядерних клітин пухлини, оточені розростаннями тонковолокнистої сполучної тканини (рис. 6.1.3).

У клінічному спостереженні №5 (хвора Д-ь, 24 років) у тканині МБ місцями відзначали більш масивні розростання сполучної тканини, що характерне для десмопластичних МБ. У тканині пухлини цієї пацієнтки виявлені скупчення клітин пухлини з вираженою гідропічною трансформацією цитоплазми.

У клінічному спостереженні №9 (хворий М-к, 34 років) тканина десмопластичної МБ місцями включала вогнища підвищеної васкуляризації, в яких переважали скупчення судин дрібного калібру.

Клітинний поліморфізм відзначали лише у 4 первинних МБ дорослих пацієнтів. Так, у клінічному спостереженні №3 (хвора Д-а, 33 років) в тканині пухлини виявлені лише окремі багатоядерні клітини на тлі високої мітотичної активності: фігури мітозів виявляли з частотою 2–4–5 у полі зору мікроскопа.

У клінічному спостереженні №5 в тканині МБ виявлені різко атипові клітини, в цитоплазмі яких містилися конгломерати ядер.

Особливо різко виражену клітинну анаплазію відзначали у клінічних спостереженнях №13 (хворий С-а, 29 років) і №16 (хвора І-а, 20 років). У тканині цих МБ на тлі безладного розташування клітин пухлини виявлені поліморфні крупні одно- і багатоядерні клітини; за даними гістологічного дослідження у цих хворих діагностовано анапластичну МБ.

Таким чином, у 12 (60%) спостереженнях за складом клітин пухлини діагностовано класичну МБ, у 4 (20%) — десмопластичну / вузлову, у 2 (10%) — десмопластичну, у 2 (10%) — анапластичну.

Цікавим є вивчення гістологічних ознак різноспрямованого диференціювання у тканині первинних МБ у дорослих пацієнтів. У нашому дослідженні різні прояви диференціювання виявлені у 8 спостереженнях.

Так, у клінічному спостереженні №4 (хворий Р-й, 27 років) у тканині первинної МБ виявлені ділянки астроцитарного диференціювання фібрилярної структури, чітко відмежовані від щільно клітинних полів (рис. 6.1.4).

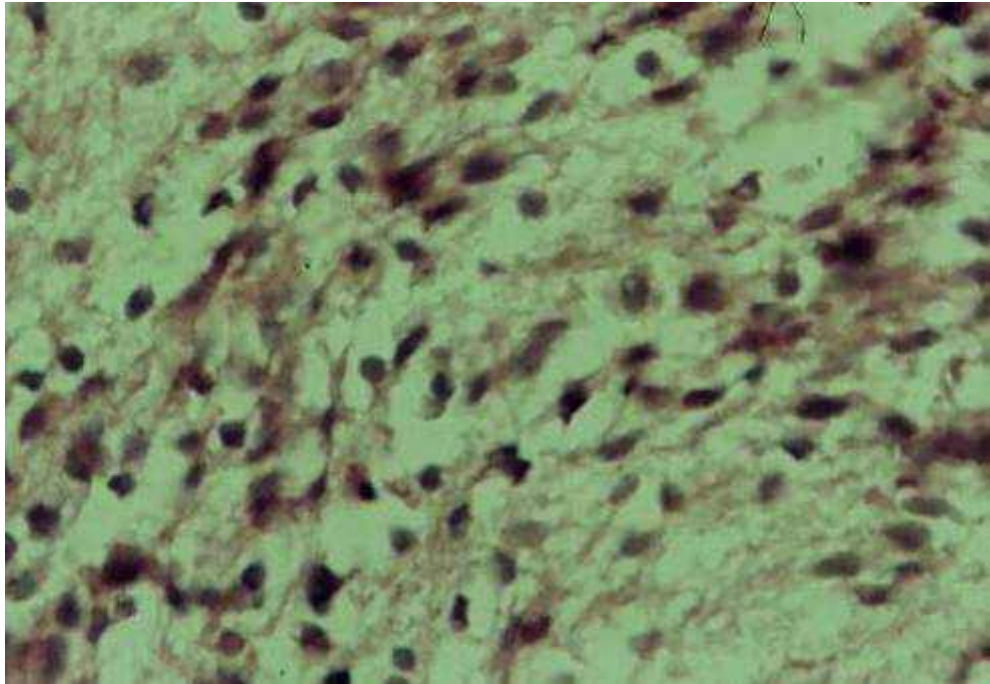


Рис. 6.1.4. Мікрофото. Клінічне спостереження №4. Ділянки астроцитарного диференціювання у тканині первинної МБ. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 36.×200.

У клінічному спостереженні №5 у тканині десмопластичної МБ виявлені ділянки астроцитарного та нейробластного диференціювання.

У клінічному спостереженні №6 (хвора В-о, 17 років) у тканині класичної МБ виявлені вогнища гліального і нейробластного диференціювання.

У клінічному спостереженні №8 (хворий А-к, 31 року) у структурі МБ виявлені ділянки астроцитарного та епендимарного диференціювання, у спостереженні №13 (хворий С-а, 29 років) — ознаки епендимарного диференціювання.

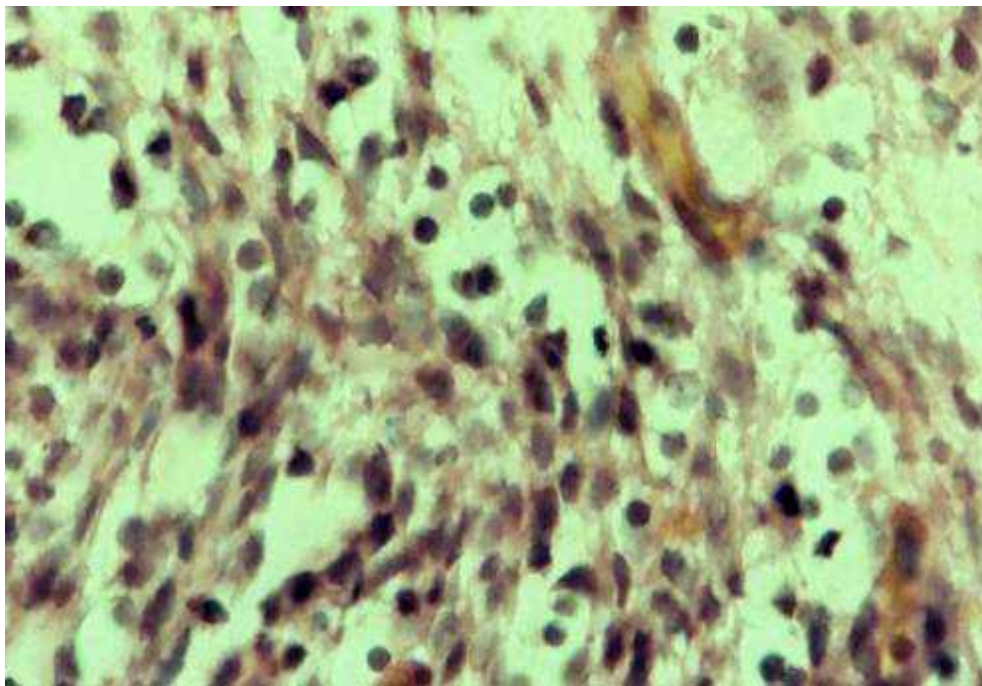


Рис. 6.1.5. Мікрофото. Клінічне спостереження №20. Ділянка астроцитарної будови у тканині первинної МБ. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×800.

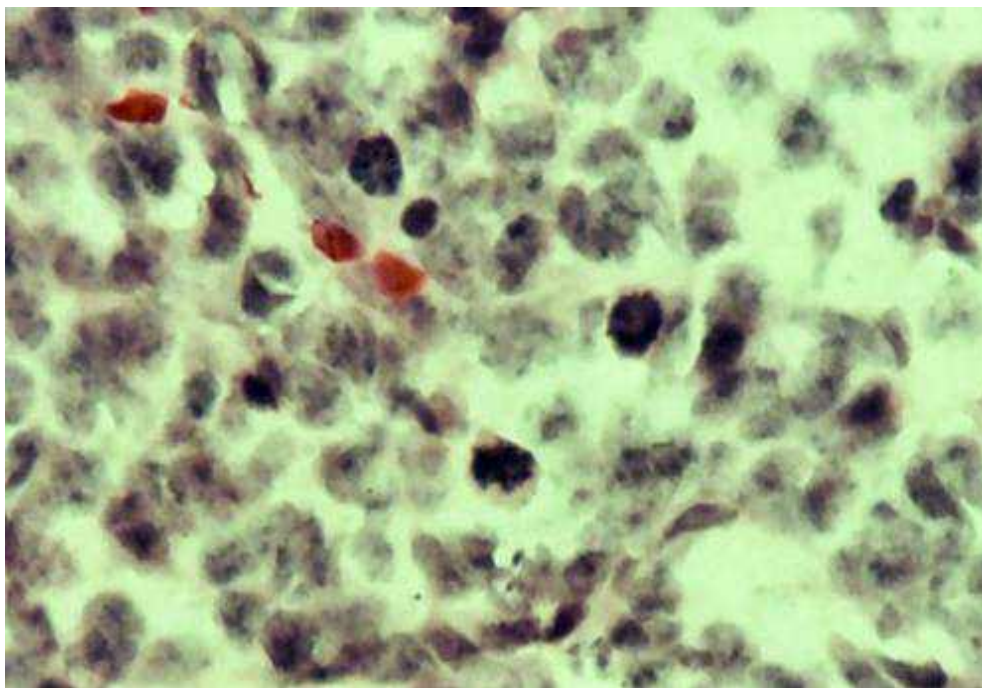


Рис. 6.1.6. Мікрофото. Клінічне спостереження №20. Ділянка олігодендрогліальної структури у тканині первинної МБ. Численні патологічні мітози. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×80).

У клінічному спостереженні №20 (хворий К-о, 20 років) у тканині МБ астроцитарні стільникові ділянки поєднувалися з олігодендрогліальними (рис. 6.1.5, 6.1.6). Важливо, що в цьому спостереженні протяжність ділянок, характерних для МБ, і ділянок з проявами диференціювання була рівнозначною.

У клінічному спостереженні №17 (хвора Л-о, 29 років) у тканині первинної МБ виявляли ділянки олігодендрогліального диференціювання. У клінічному спостереженні №7 (хворий П-в, 25 років) тканина МБ включала комплекси жирових клітин.

Таким чином, клітини первинних МБ здатні до різноспрямованого диференціювання: у астроцитарному, олігодендрогліальному, епендимарному напрямках, інколи у тканині пухлини відзначають ознаки диференціювання у кількох напрямках. Правомірно припустити, що така особливість характерна для МБ саме дорослих пацієнтів. У цілому, такі знахідки підтверджують одну з відомих гіпотез про походження МБ з НСК, які персистують у нейрогенераторних зонах постнатального ГМ. Мітотична активність у тканині первинних МБ дорослих осіб широко коливалася, що відображає гетерогенність таких новоутворень за активністю проліферативного потенціалу.

У клінічних спостереженнях №1, 3, 8–12 в тканині МБ виявлені клітини пухлини на різних стадіях мітозу, від 1–2 до 4–5 у полі зору мікроскопа (рис. 6.1.7).

Мітози частіше за все виділяли у завершальній стадії поділу клітин пухлини (рис. 6.1.8).

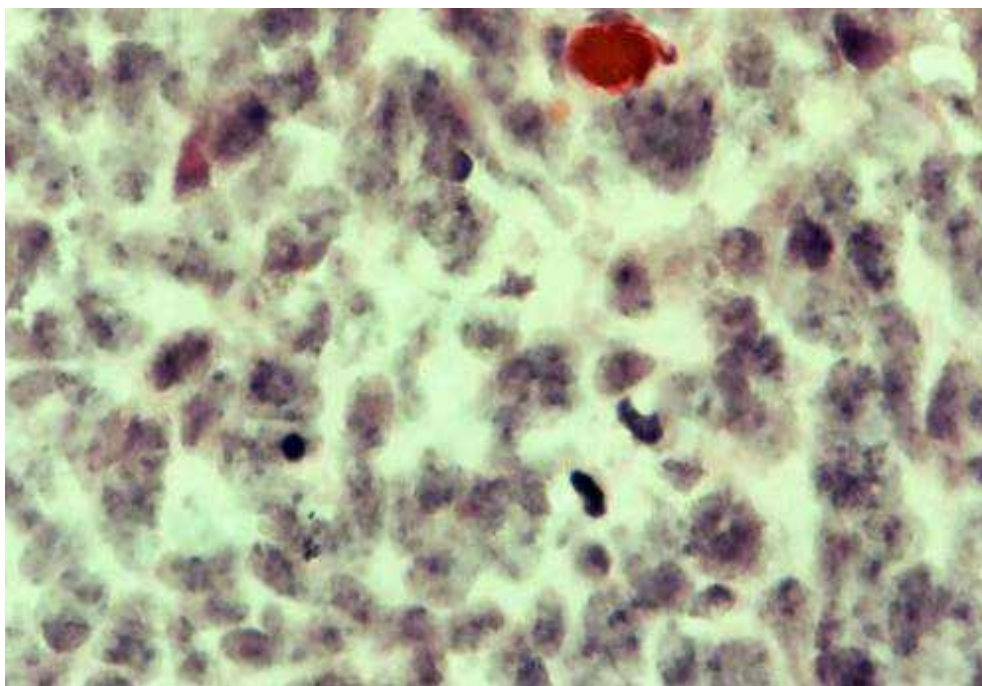


Рис. 6.1.7. Мікрофото. Клінічне спостереження №4. Множинні мітози в тканині первинної МБ дорослих. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×800.

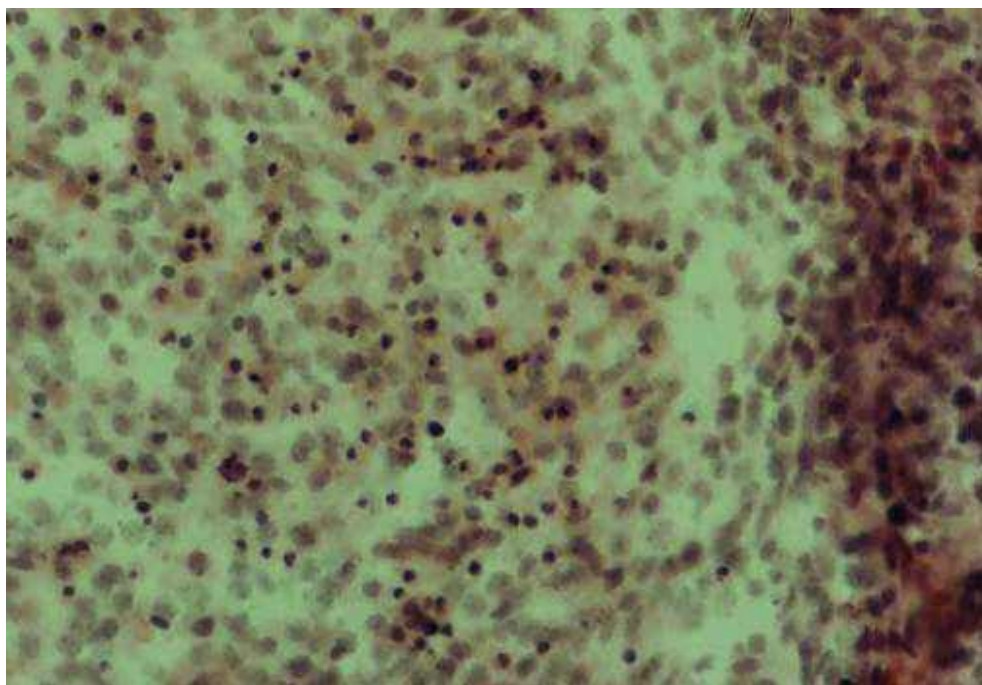


Рис. 6.1.8. Мікрофото. Клінічне спостереження №4. Мітоз у завершальній стадії в тканині первинної МБ. Забарвлення гематоксиліном і еозином Зб.×800.

Особливо високою мітотична активність виявилася у клінічному спостереженні №11 (хвора Д-н, 35 років) — подекуди по 5–7 фігур мітозу у полі зору. У 7 спостереженнях (№7, 14–18, №20) у тканині первинної МБ мітози виявляли нечасто, нерегулярно, зазвичай по 1–3, до того ж, не у кожному полі зору. У клінічних спостереженнях №2–6, 13, 19 клітини пухлини виявляли поодинокі мітози.

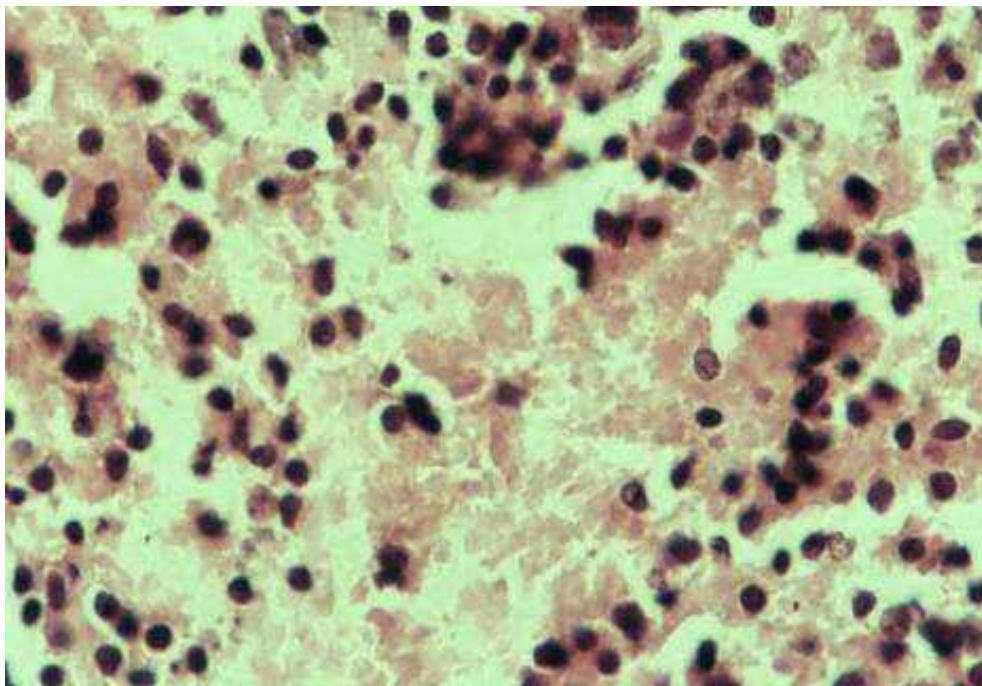
Таким чином, оцінка мітотичної активності клітин первинних МБ у дорослих пацієнтів свідчать про широкий діапазон її коливань.

Найчастіше у тканині МБ виявляли дифузно розсіяні пікноморфні клітин з так званими «голими» ядрами, що утворюються після руйнування цитоплазматичних тіл клітин пухлини (рис. 6.1.9). У клінічному спостереженні №3 (хворий М-к, 34 років) такі клітини формували протяжні скупчення у тканині пухлини (рис. 6.1.9).

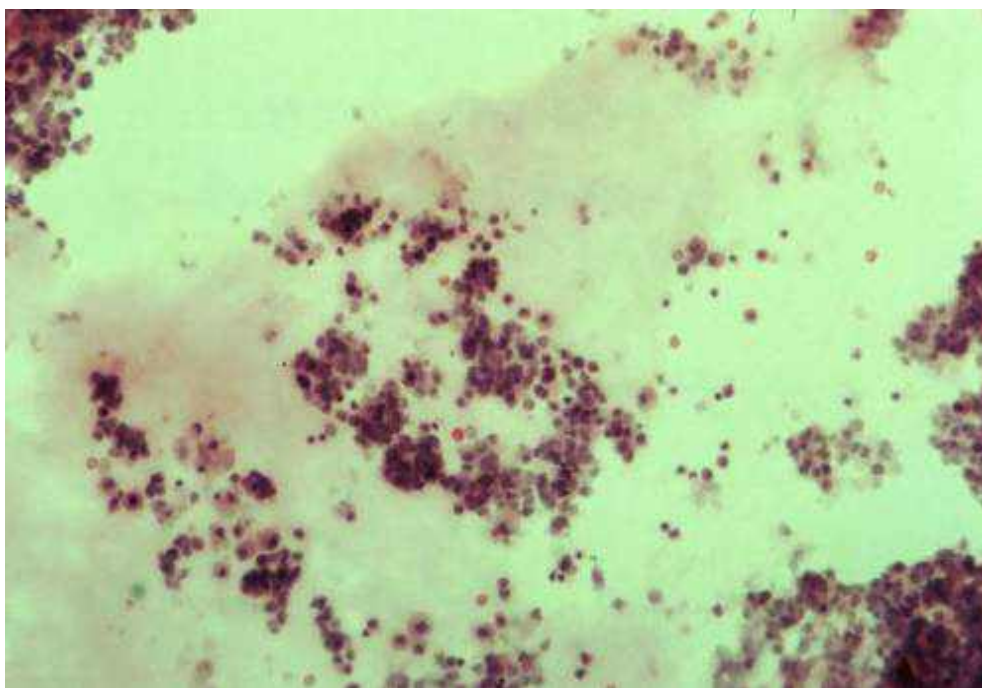
Поряд з цим, у тканині пухлин нерідко виявляли дифузно розсіяні фігури апоптозу, що є проявом спонтанної загибелі клітин пухлини (клінічні спостереження №1, 3–6, 11, 13, 14).

У той же час, у тканині первинних МБ у дорослих осіб виявляли спонтанні вогнища коліквації або коагуляції. Так, у клінічному спостереженні №6 (хвора В-о, 17 років) у тканині пухлини відзначали дрібні вогнища несформованого некрозу (рис. 6.1.10).

У клінічному спостереженні №14 (хворий Г-о, 34 років) в тканині первинної МБ виявлені велике вогнище розплавлення та залишкові комплекси десквамованих клітин пухлини з дистрофічними та некробіотичними змінами (рис. 6.1.11).



А



Б

Рис. 6.1.9. Мікрофото. А — клінічне спостереження №14. Дифузне розсіювання пікноморфних клітин пухлини («голих ядер») у тканині первинної МБ. Збарвлення гематоксином і еозином. Зб.×400. Б — те саме клінічне спостереження. Пікноморфні клітини. Збарвлення гематоксином і пікрофуксином. Зб.×400.

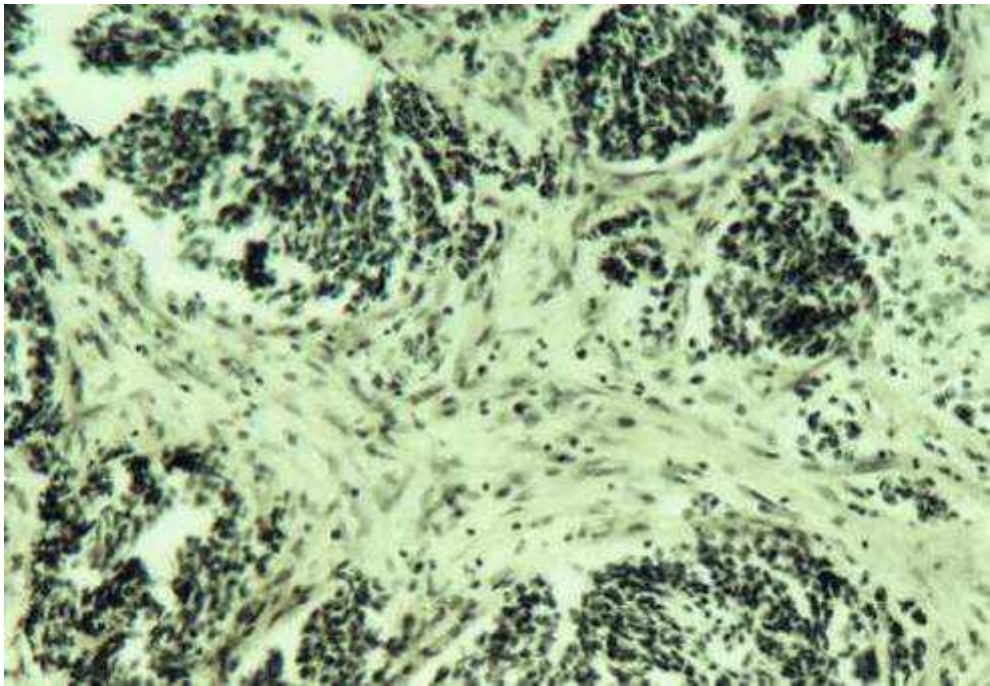


Рис. 6.1.10. Мікрофото. Клінічне Спостереження №6. Формування вогнища некрозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×400.

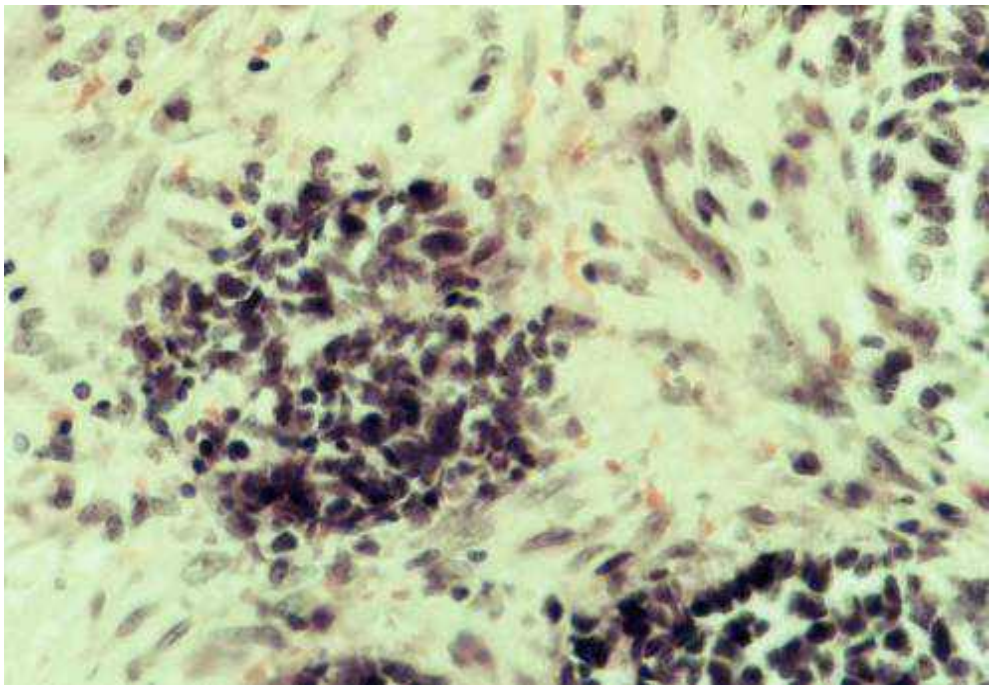


Рис. 6.1.11. Мікрофото. Клінічне спостереження №14. Велике вогнище розплавлення у тканині первинної МБ. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×200.

У клінічному спостереженні №20 (хворий К-о, 20 років) у тканині МБ виявлені множинні дрібні вогнища гострого коагуляційного некрозу з лейкоцитарною інфільтрацією, скупчення клітин пухлини з гідропічної трансформацією цитоплазми.

У клінічному спостереженні №15 (хвора П-о, 52 років) у тканині МБ відзначали множинні безклітинні ділянки; у спостереженні №13 (хворий С-а, 29 років) у тканині виявлені невеликі вогнища кістозного розплавлення.

Таким чином, можна зробити висновок, що спонтанне виникнення вогнищ некрозу та розплавлення тканини нехарактерне для первинних («інтактних») МБ, оскільки їх виявляють лише в окремих спостереженнях.

Стромальний компонент і судини у тканині МБ також мали власні особливості.

Таким чином, МБ дорослих пацієнтів, видалені під час першого хірургічного втручання, характеризуються різноманітністю гістоструктури і загальної архітекτονіки. У більшості спостережень діагностовані МБ класичного типу, рідше — десмопластичного та десмопластично / вузлового. У 2 хворих діагностовано анапластичну МБ. У тканині одних первинних МБ мітотичні фігури виявляють досить часто, у інших — зрідка. У 8 (40%) первинних МБ виявляли клітини з ознаками спонтанного апоптозу. У деяких МБ виявлені вогнища спонтанного розплавлення або коагуляційного некрозу. Для МБ дорослих характерні висока проліферативна і значна апоптотично-некротична здатність клітин.

6.2. Патоморфологічний аналіз особливостей гістоструктури медулобластом на матеріалі повторних операцій після променевої терапії

Порівняльне патоморфологічне дослідження тканини первинних і повторно видалених МБ у дорослих пацієнтів після ПТ, виявило широкий спектр змін, найбільш важливим з яких є зниження мітотичної активності

клітин, що характеризує цитостатичний ефект лікування, виникнення цитодеструктивних змін.

За даними гістологічного дослідження 5 повторно видалених МБ, їх структура після ПТ не змінилася. Проте, у тканині цих пухлин виявлене зменшення мітотичної активності, що вважають цитостатичним ефектом ПТ. У клінічному спостереженні №1 (хвора А-к, 37 років) повторна операція виконана через 32 міс після першої; в тканині МБ, видаленої після ПТ і повторного втручання, мітози не виявляли, натомість у первинній пухлині їх було від 1 до 4 майже у кожному полі зору мікроскопа. У тканині МБ після ПТ відзначали повне пригнічення мітотичної активності, виникнення вогнищ розплавлення.

У клінічному спостереженні №3 (хвора Д-а, 33 років) повторна операція виконана через 45 міс після першої. В тканині МБ після ПТ відзначали зменшення частоти виявлення фігур мітозу майже вдвічі порівняно з такою у тканині первинної пухлини, в якій виявляли по 2–4–5 мітозів у полі зору.

У клінічному спостереженні №18 (хворий А-о, 41 року) період часу між виконанням хірургічних втручань — 55 міс. У тканині первинної пухлини виявляли 1–3 мітози у полі зору; у тканині пухлини після ПТ вміст клітин у стані поділу, суттєво зменшився (поодинокі мітози), спостерігали масивні розростання сполучної тканини.

Значне зниження мітотичної активності після ПТ відзначене у клінічному спостереженні №12 (хворий Ю-к, 42 років), що супроводжувалося появою у пухлині дифузно розсіяних пікноморфних клітин на тлі поширених ділянок фіброзу (рис. 6.2.1). Період часу між першою і повторною операціями — 18 міс. Важливо відзначити виражені дистрофічних і некробіотичні зміни у залишкових скупченнях клітин пухлини, оточених розростаннями сполучної тканини (рис. 6.2.2).

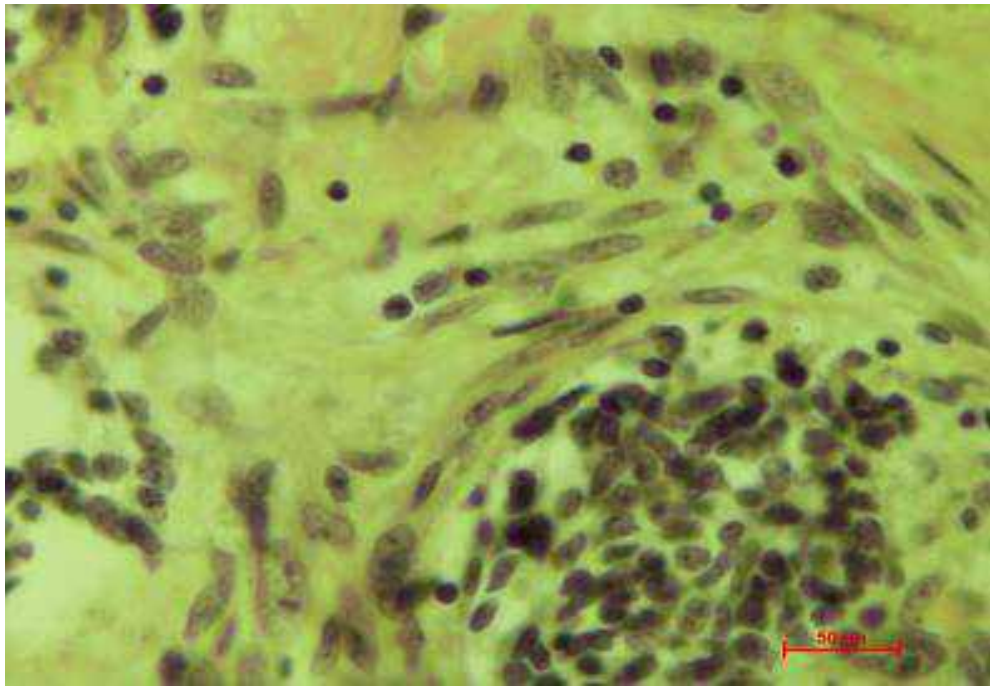


Рис. 6.2.1. Мікрофото. Клінічне спостереження №12 (хворий Ю-к, 42 років). Тканина Мб після повторного хірургічного втручання. Розростання сполучної тканини навколо залишкових комплексів клітин пухлини після ПТ. Забарвлення гематоксиліном і пікрофуксином. Зб.×200.

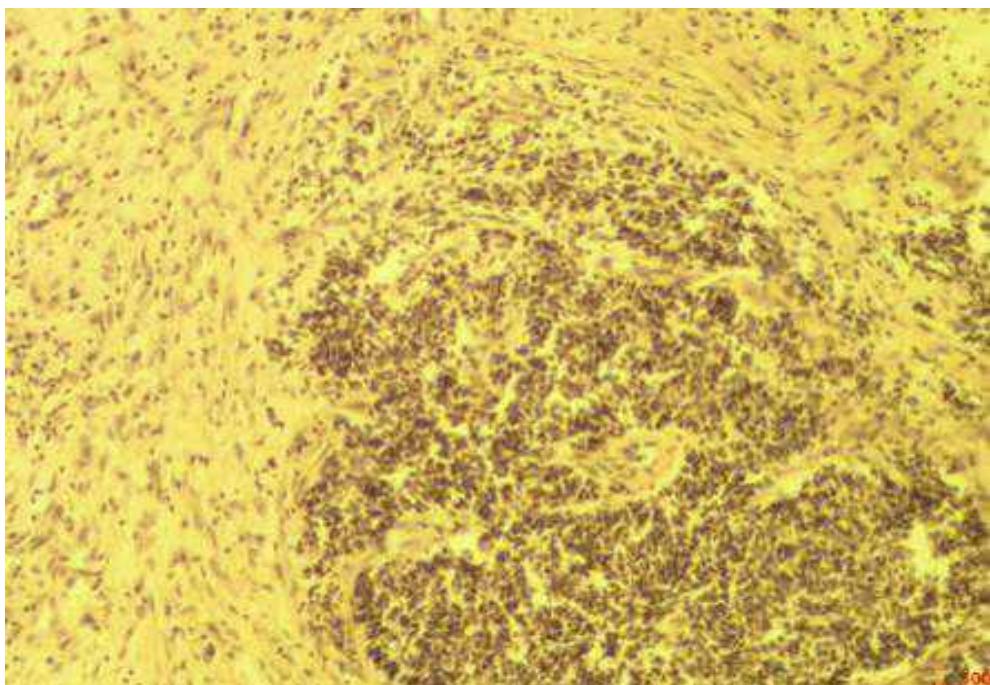


Рис. 6.2.2. Мікрофото. Те саме клінічне спостереження. Дистрофічні та некробіотичні зміни у залишкових комплексах клітин МБ, оточених розростаннями сполучної тканини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×400.

Таким чином, за результатами гістологічного дослідження зразків МБ після курсу ПТ, отриманих під час повторного хірургічного втручання, виявлений цитостатичний ефект опромінення у вигляді зниження мітотичної активності в динаміці продовженого росту МБ у 6 дорослих хворих, «променеві гіганти», а також цитодеструктивні зміни різного ступеня виявлені в тканині пухлин 8 хворих.

Клінічне спостереження №14 (хворий Г-о, 34 років): у тканині МБ після ПТ виявлені невеликі вогнища коагуляційного некрозу, оточені дистрофічними клітинами пухлини, цих змін не було у тканині первинної пухлини.

Цікавим є клінічне спостереження №6 (хвора В-о, 17 років): класична МБ з ознаками астрогліального і нейронального диференціювання, наявністю невеликих вогнищ коагуляційного некрозу (тканина первинної пухлини. Через 37 міс хвора оперована повторно. У тканині пухлини, видаленої під час другої операції, відзначали значне збільшення площі вогнищ некрозу, виникнення великих геморагічних вогнищ. Численні зерна гемосидерину на тлі старих крововиливів можуть вказувати на давність їх виникнення, ймовірніше за все, під час проведення ПТ (рис. 6.2.3). Ділянки збереженої тканини пухлини мали переважно астроцитарну структуру.

Клінічне спостереження №5 (хворий Д-ць, 24 років): тканина первинної пухлини — десмопластична МБ з ознаками астроцитарного та нейронального диференціювання, поодинокими мітозами; після проведення ПТ у тканині пухлини відзначали ділянки розрідження, розростання сполучної тканини, множинні вогнища геморагії та некрозу. Проміжок часу між першою та повторною операціями — 6 років 8 міс.

Утворення великих вогнищ геморагії та коліквацийного некрозу в поєднанні з пригніченням мітотичної активності після ПТ відзначали також у тканині МБ з ознаками астроцитарного та епендимарного диференціювання — клінічне спостереження №8 (хворий А-к, 31 року). За результатами гістологічного дослідження тканини пухлини після повторного втручання,

збереглися переважно ті ділянки МБ, що мали астроцитарну будову. Проміжок часу між першою та повторною операціями — 12 міс.

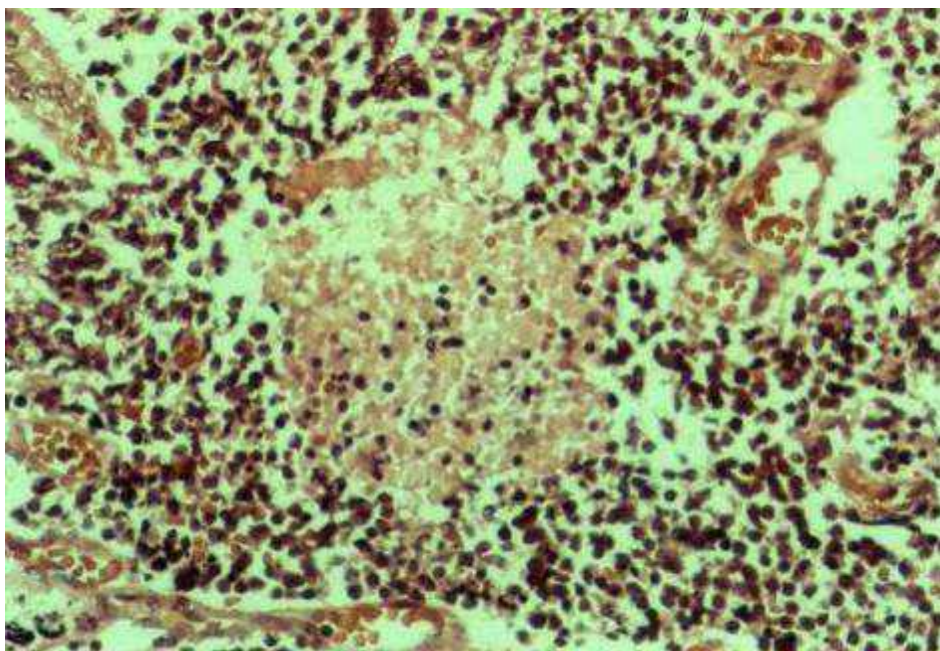


Рис. 6.2.3. Мікрофото. Клінічне спостереження №6 (хвора В-о, 17 років). Вогнища геморагії та некрозу в тканині МБ після ПТ. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×400.

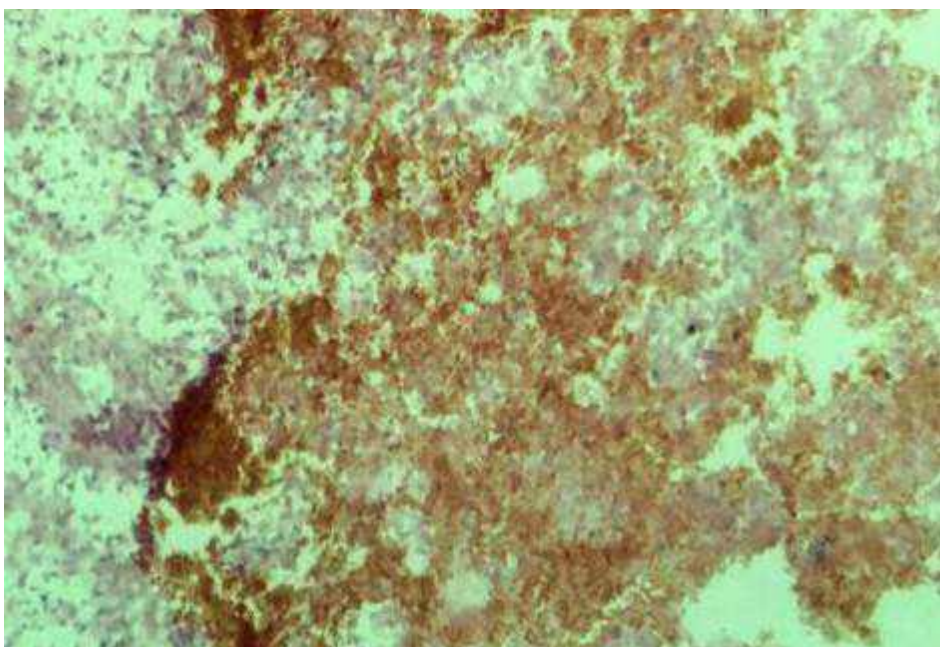


Рис. 6.2.4. Мікрофото. Клінічне спостереження №19 (хвора Г-к, 17 років). Тканина МБ після проведення ПТ. Велике вогнище некрозу з геморагічним компонентом. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×200.

Найбільші вогнища крововиливу різної давності (субтотальна геморагічна імбібіція), подекуди з формуванням «кривавих озер», множинні вогнища некрозу у тканині МБ після ПТ відзначали у клінічному спостереженні №19 (хвора Г-к, 17 років). Період часу між першою та повторною операціями — 5 років (рис. 6.2.4).

Клінічне спостереження №20 (хворий К-о, 20 років) у тканині МБ після ПТ відзначали збільшення площі існуючих дрібних вогнищ некрозу, виникнення крововиливів. Період часу між першою та повторною операціями — 16 міс.

Логічно припустити, що крововиливи у тканині МБ після ПТ спричинені токсичним впливом опромінення не лише на клітини пухлини, а й стінки судин, що зумовлює значне збільшення їх проникності і масивний діapedез формених елементів крові за межі судин.

Клінічне спостереження №10 (хвора Т-б, 28 років) у тканині МБ після ПТ виявлені ділянки коагуляційного некрозу та геморагії в поєднанні з гідропічними змінами клітин пухлини у перифокальній зоні на значному протязі (рис. 6.2.5).

Варто зазначити, що у ділянках тканини пухлини між вогнищами некрозу подекуди виявляли мітози, блоковані у метафазі, що свідчило про затримку мітотичного поділу клітин пухлини і трактується в літературі як частковий цитостатичний ефект попередньої ПТ (рис. 6.2.6). Період часу між первинною та повторною операціями — лише 8 міс. Збережені ділянки тканини пухлини диференційовані у астроцитарному напрямку (характерна «сіткоподібна» структура) (рис. 6.2.7, 6.2.8).

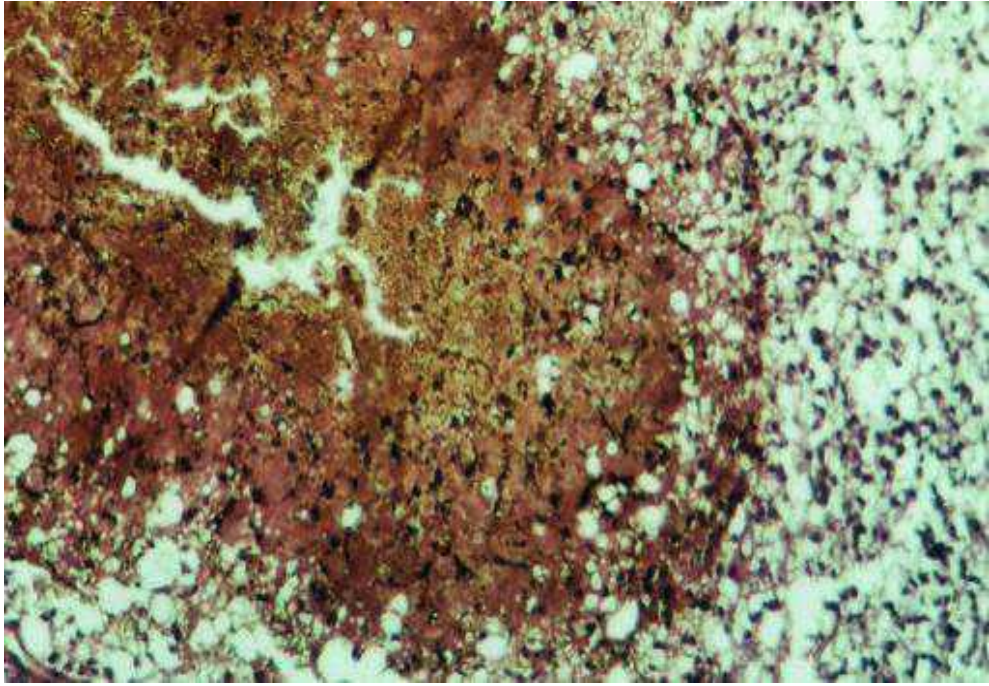


Рис. 6.2.5. Мікрофото. Клінічне спостереження №10 (хвора Т-б, 28 років). Тканина МБ після ПТ. Старе вогнище геморагії, яке виникло внаслідок ПТ, гідропічні зміни клітин пухлини у перифокальній зоні. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×200.

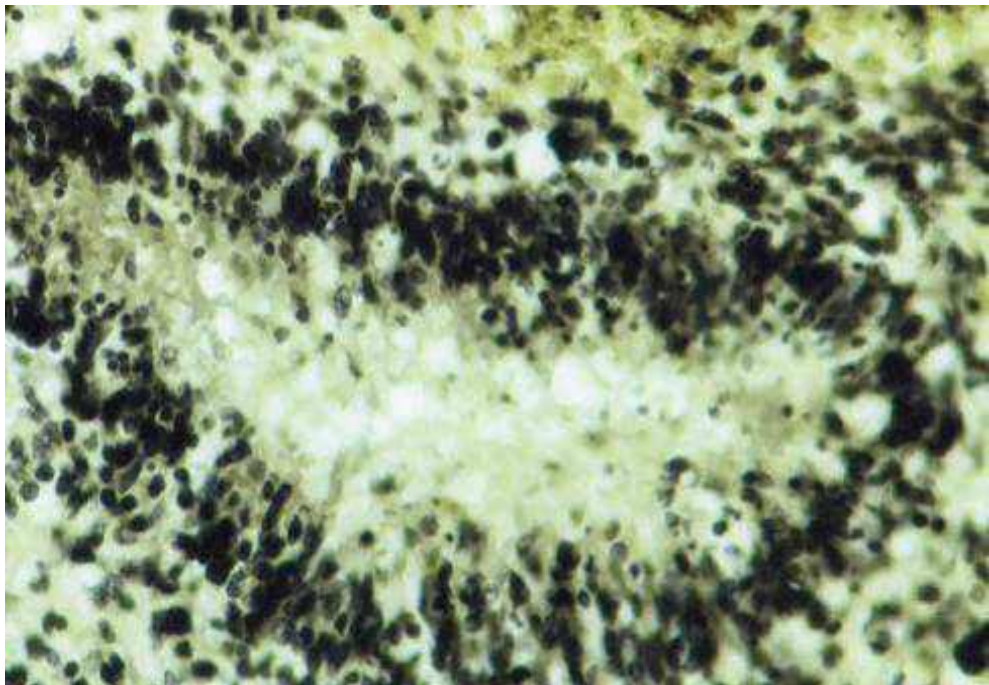


Рис. 6.2.6. Мікрофото. Те саме клінічне спостереження. Тканина МБ після ПТ і повторної операції. Вогнище некрозу, оточене «псевдопалісадом». Збарвлення гематоксиліном і пікрофуксином, Зб.×400.

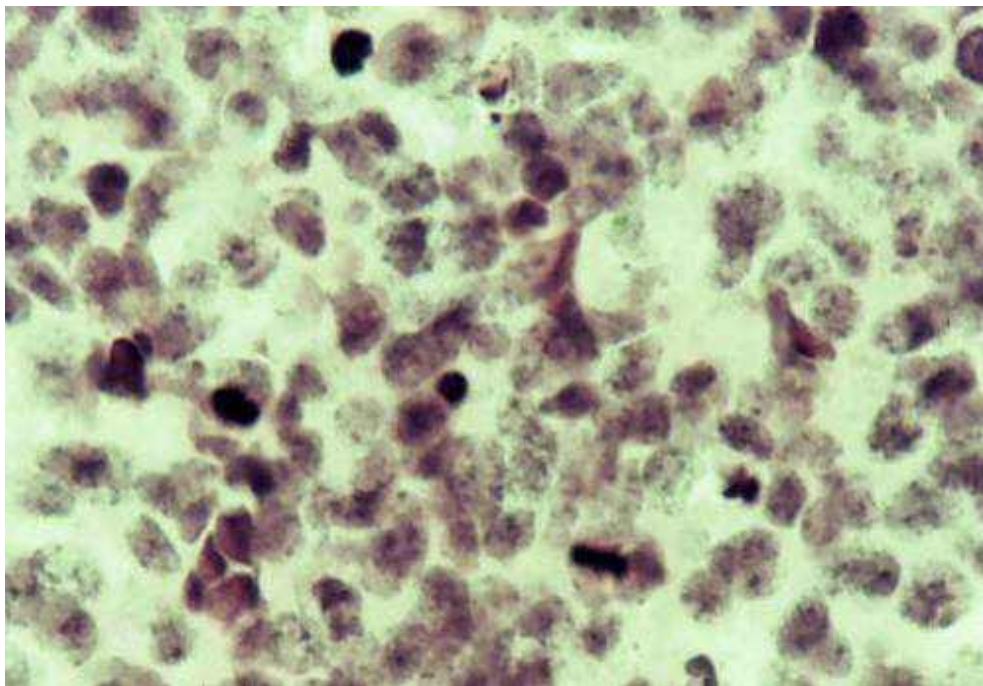


Рис. 6.2.7. Мікрофото. Клінічне спостереження №10 (хвора Т-б, 28 років). Тканина МБ після ПТ: мітози, блоковані у метафазі. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×800.

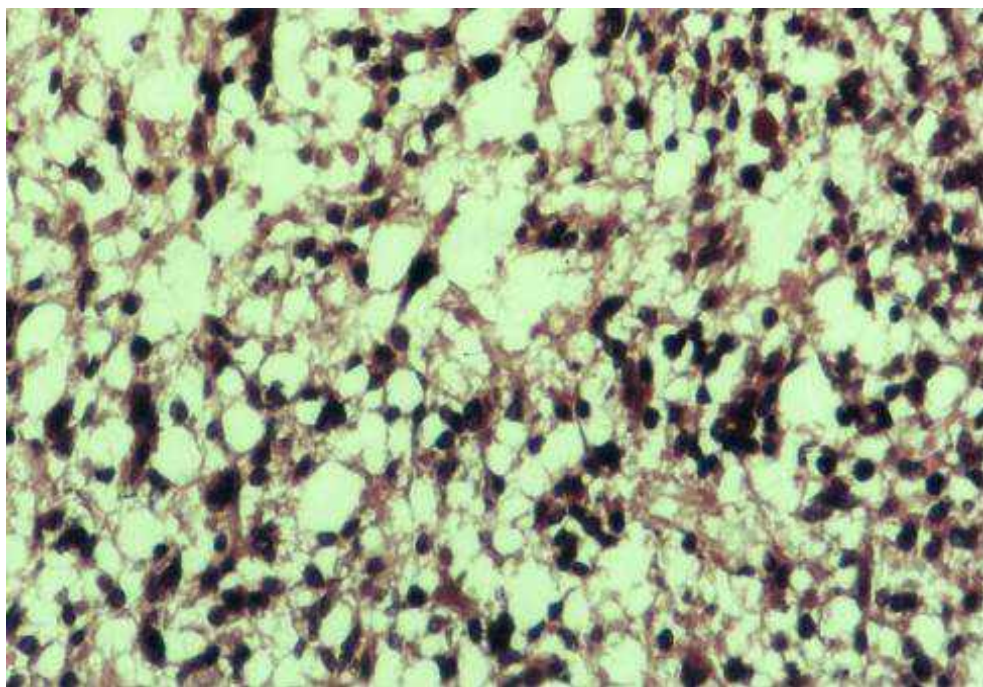


Рис. 6.2.8. Мікрофото. Те саме клінічне спостереження. Тканина МБ після ПТ: ділянка астроцитарного диференціювання. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.×400.

Цікавим є клінічне спостереження №4 (хворий Р-й, 27 років). Період часу між першою та повторною операціями — 10 років. Під час гістологічного дослідження у тканині МБ після ПТ виявлені вогнища розплавлення, геморагії та некрозу (рис. 6.2.9, 6.2.10).

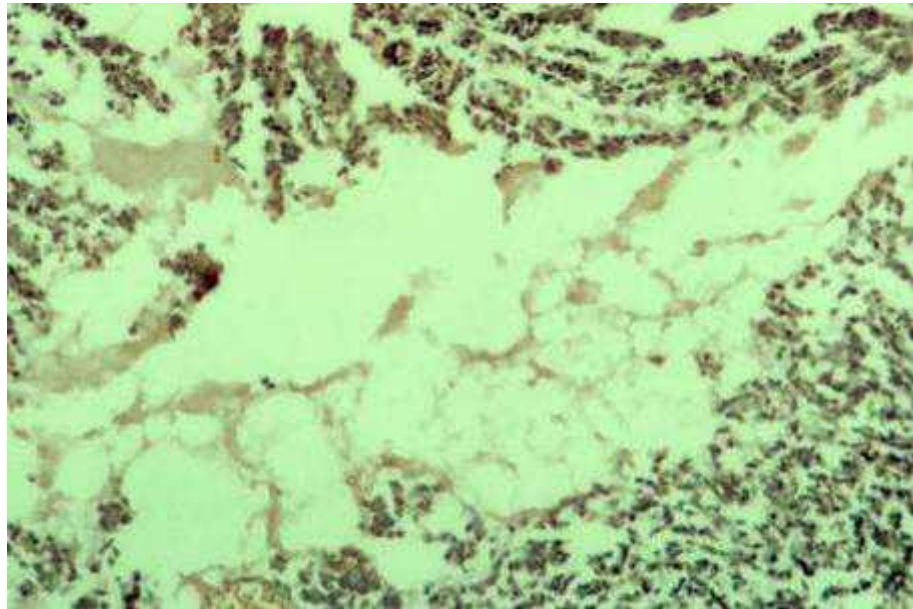


Рис. 6.2.9. Мікрофото. Клінічне спостереження №4 (хворий Р-й, 27 років). Тканина МБ після ПТ: вогнище розплавлення. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 3б.×200.

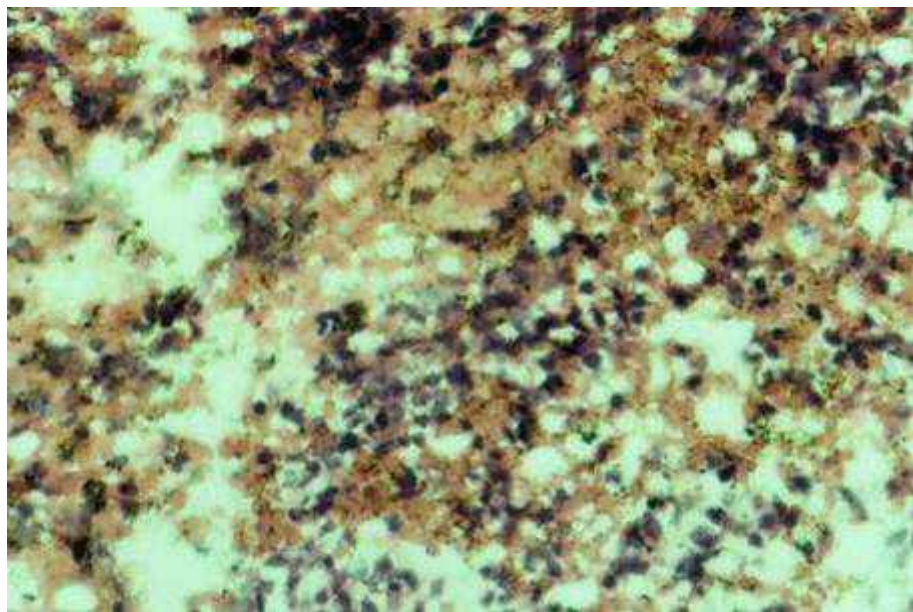
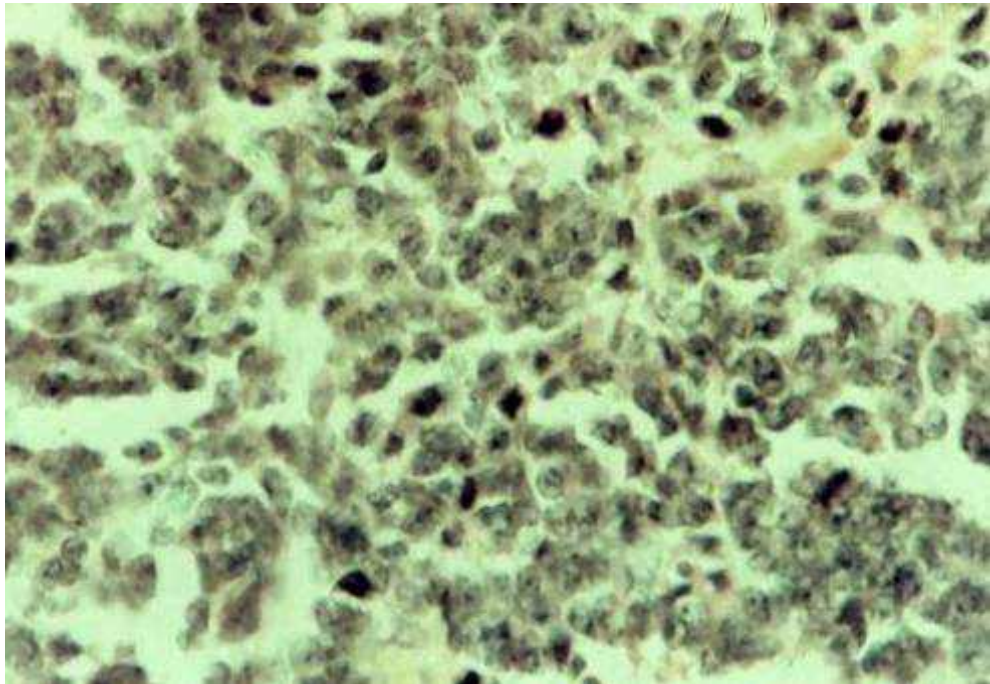
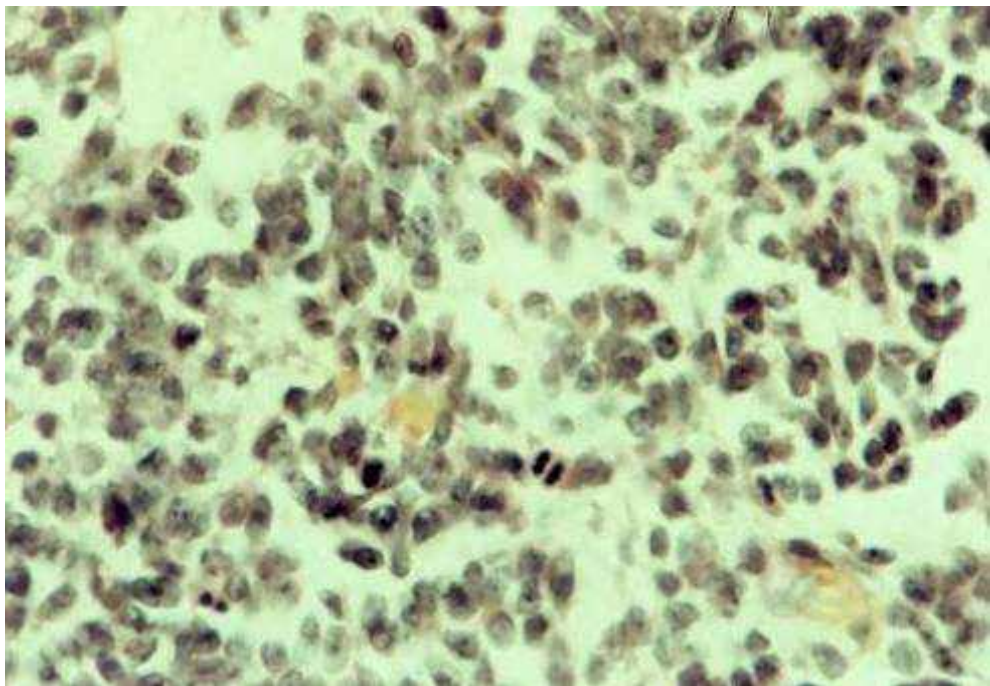


Рис. 6.2.10. Мікрофото. Те саме клінічне спостереження. Тканина МБ після ПТ: вогнища геморагії і некрозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 3б.×200.

У збережених ділянках пухлини подекуди виявляли мітози, блоковані у метафазі, інколи — у стадії завершення (рис. 6.2.11).



А



Б

Рис. 6.2.11. Мікрофото. Клінічне спостереження №4 (хворий Р-й, 27 років). Тканина МБ після ПТ. А — мітози, блоковані у стадії метафазі. Зб.×800; Б — мітоз у стадії завершення. Зб.×400. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

Це спостереження демонструє цитодеструктивний ефект ПТ.

У 4 спостереженнях у тканині МБ після ПТ, видалених під час повторного втручання, виявлені ділянки замісного фіброзу на тлі розрідження клітинної популяції. Зокрема, у клінічному спостереженні №9 (хворий М-к, 34 років) і №12 (хворий Ю-к, 42 років) на тлі зазначених змін у тканині МБ після ПТ також відзначали зниженням мітотичної активності, збільшення вмісту клітин з пікнозом ядер.

Клінічне спостереження №13 (хворий С-а, 29 років): у тканині анапластичної МБ після ПТ виникли численні безклітинні ділянки, вогнища замісного фіброзу, мітози відсутні. Період часу між першою та повторними операціями — 20 міс.

Наведені спостереження МБ демонструють ознаки цитодеструктивного та цитостатичного впливу ПТ.

На відміну від наведених прикладів, у 2 хворих після ПТ щільність клітин пухлини збільшилася, зросла мітотична активність (клінічне спостереження №15 — хвора П-о, 52 років, інтервал між операціями — 8 міс; клінічне спостереження №7 — хворий П-в, 25 років, інтервал між операціями — 23 міс).

Логічно припустити, що такі зміни гістоструктури МБ після курсу ПТ свідчать про активацію проліферації в динаміці їх продовженого росту.

Клінічне спостереження №11 (хвора Д-н, 35 років): після ПТ відзначали збільшення щільності клітин пухлини, їх поліморфізм. При цьому мітотична активність не змінилася, залишалася такою ж високою (від 2–3 до 5–7 мітозів у полі зору), як і у первинній МБ. Інтервал між операціями — 8 міс.

У 4 спостереженнях після ПТ у тканині МБ відзначали лише збільшення фракції дифузно розсіяних клітин з пікнотичними ядрами, що може характеризувати цитотоксичний ефект опромінення у дорослих пацієнтів.

Проведені патоморфологічні дослідження в порівняльному аспекті медулобластом дорослих хворих на біоптичному матеріалі первинних і повторних операцій дозволили виявити широкий спектр зрушень у

гістоструктурі пухлин після променевої терапії в порівнянні з первинними пухлинами. Однак вираженість і поширеність гістоструктурних проявів променевого патоморфозу широко варіюють у різних спостереженнях .

Так, зниження мітотичної активності в тканині лікованих медуллобластом у 4 -х хворих на тлі збереженої загальної гістоструктури відображає цитостатическитй ефект, індукований променевою терапією. Виявлення в лікованих медуллобластомах патоморфологічних ознак регресивних змін з формуванням вогнищ коагуляційного або колікваційного некрозу кваліфікується як цитодеструктивний вплив попередньої променевої терапії. При цьому в більшості спостережень цитодеструктивний ефект розвивається на тлі зниження або повного придушення мітотичної активності в тканині повторно досліджених пухлин.

У той же час у ряді випадків у процесі продовженого росту медуллобластом, незважаючи на проведену курсову променеву терапію, встановлено ознаки активації їх проліферації, що проявилось підвищенням клітинної щільності із збільшенням популяції пухлинних клітин,що активно діляться, з наявністю фігур мітотичного поділу на різних стадіях мітотичного циклу, включаючи кінцеві стадії завершеного мітозу .

Детально проаналізовані усі 24 спостереження МБ у повторно оперованих хворих. Це було необхідно, оскільки, по-перше, публікацій, присвячених таким пухлинам, недостатньо; по-друге, лікувальний патоморфоз у різних спостереженнях МБ різнився: від вираженої цитодеструкції до стимуляції росту пухлин, що залежало як від чутливості до ПТ, так і особливостей гістоструктури первинного новоутворення, а також строків призначення, доз і схем опромінення. Необхідно зазначити, що вираженість і поширеність гістоструктурних проявів променевого патоморфозу значно різнилися у різних спостереженнях.

Таким чином, за виявленими ознаками лікувального патоморфозу усі досліджені МБ можна розподілити на 3 групи: 1) пухлини, мало чутливі до ПТ (переважно цитостатичні зміни); 2) пухлини, чутливі до ПТ (переважно

цитодеструктивні зміни); 3) пухлини, резистентні до ПТ (без суттєвих проявів лікувального патоморфозу). Період часу між першою та повторною операцією від 5–8 міс до 5 років і більше.

У табл. 6.2.1 і на рис. 6.2.12 наведені узагальнені результати аналізу проявів лікувального патоморфозу у тканині МБ залежно від інтервалів часу між першою та повторною операціями.

Таблиця 6.2.1.

Тривалість безрецидивного періоду (міс) при МБ залежно від ефекту ПТ

Дія ПТ	Тривалість безрецидивного періоду, міс				p
	M±m	медіана	квартиль		
			25%	75%	
1) Цитостатична (n=10)	26,8±5,85	24	8,4	45,6	p ₁₋₃ =0,085 p ₂₋₃ =0,069
2) Цитодеструктивна і цитотоксична (n=9)	46,33±11,3	37	20,3	60,4	p ₂₋₃ =0,036
3) Відсутня (n=5)	14,01±2,9	13	8	18	

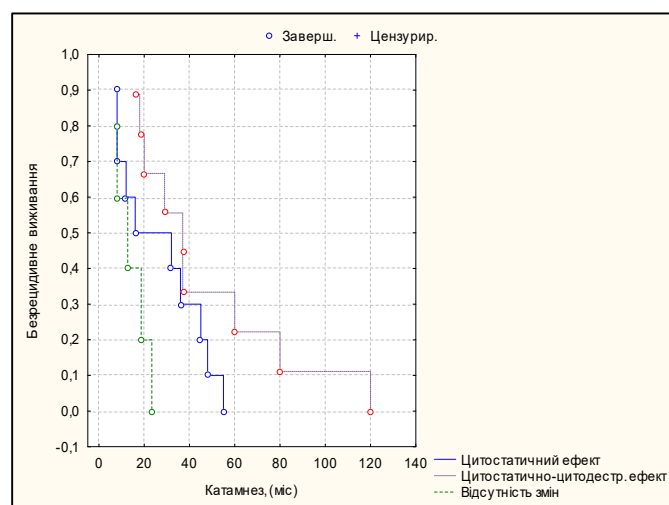


Рис. 6.2.12. Графічне відтворення тривалості безрецидивного періоду при МБ в залежності від їх чутливості до ПТ.

Тривалість без рецидивного періоду у дорослих хворих, у МБ яких відзначений цитостатичний і цитодеструктивний ефект ПТ, становила від 28,8 до 46,3 міс, за їх відсутності — 14 міс, тобто у 2,6 разу менше, відмінності статистично достовірні, що дозволяє стверджувати, що у випадку вираженого лікувального патоморфозу (суттєвий вплив ПТ на пухлину), тривалість життя пацієнтів збільшується.

Таким чином, результати гістологічного дослідження тканини МБ до і після ПТ підтверджують дані літератури про їх високу чутливість до опромінення. В той же час, МБ — група пухлин, неоднорідних за своєю чутливістю до ПТ, що визначається багатьма чинниками, зокрема, особливостями самого новоутворення та характеристик ПТ. Можливо, використання сучасних методів ПТ і стандартизованих протоколів лікування дозволить зменшити частку МБ, резистентних до опромінення. Дотепер не виявлені біологічні особливості МБ, які б безпосередньо визначали їх чутливість до ПТ, це завдання для подальших досліджень. За даними морфологічного дослідження у МБ, видалених після ПТ, під час повторної операції, виявлені численні зміни, на відміну від первинних пухлин, однак, вони не залежали від гістологічного типу МБ, що значно ускладнює прогнозування чутливості первинних пухлин до ПТ. Дослідження тканини МБ, видалених під час повторного хірургічного втручання, дозволяє судити про ефект ПТ: цитостатичний, цитодеструктивний або його відсутність. Лікувальний патоморфоз у МБ після ПТ певною мірою пов'язаний з тривалістю без рецидивного періоду. Допоміжними ознаками для прогнозування ефективності ПТ при МБ можуть бути кількість мітозів і активно проліферуючих клітин, ознаки апоптозу у первинній пухлині.

РОЗДІЛ 7

ЛІКУВАННЯ МЕДУЛОБЛАСТОМ У ДОРΟΣЛИХ ПАЦІЄНТІВ ТА АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ.

При визначені показань до виконання хірургічного втручання при МБ у дорослих, так само як і у дітей, необхідно враховувати можливу радикальність видалення пухлини з метою відновлення ліквороциркуляції, декомпресії структур ЗЧЯ, регресу неврологічних симптомів, покращення якості життя хворих. Операція має бути спрямована на максимально можливе видалення пухлини, що дозволяє створити достатній резерв часу для проведення ПТ і ХТ. З іншого боку, необхідно мінімізувати хірургічну травму суміжних структур ГМ, особливо його стовбурових відділів, судин, що запобігає поглибленню неврологічного дефіциту, скорочує строки лікування пацієнта у нейрохірургічному стаціонарі, покращує якість його життя.

Основні принципи та цілі оперативного втручання при МБ:

- максимально можливе видалення пухлини з забезпеченням ефективною внутрішньої декомпресії;
- встановлення точного гістологічного діагнозу;
- забезпечення оптимальних умов для проведення в подальшому ад'ювантної терапії.

При виконанні хірургічних втручань мають біти дотримані такі вимоги:

- застосування сучасних нейрохірургічних технологій;
- висока точність нейрохірургічних маніпуляцій за рахунок використання мікрохірургічної техніки;
- мінімізація хірургічної травми;

- збереження функціонально важливих структур ГМ, артерій і вен;
- попередження виникнення або поглиблення неврологічного дефіциту;
- скорочення строків лікування пацієнта у нейрохірургічному стаціонарі з метою якнайшвидшого початку ад'ювантної терапії (ПТ, ХТ);
- підвищення якості життя хворих, збільшення тривалості безрецидивного періоду.

Для МБ характерні інфільтративний ріст, інвазія клітин пухлини по периваскулярних просторах, лікворних шляхах ГМ, вздовж базальних мембран м'якої оболонки ГМ, поширення пухлинного процесу на функціонально важливі зони мозку. Топографічні та гістобіологічні особливості МБ мозочка обмежують можливості їх хірургічного лікування, що вимагає передопераційної оцінки факторів, які впливають на хірургічну тактику, оптимізують її, знижують ризик втручання, забезпечують задовільну якість життя хворого після операції. За «тотального» видалення МБ їх клітини виявляють у речовині ГМ на відстані 3–4 см від видаленого пухлинного вузла. Вік і стать хворих, тривалість захворювання, темпи розвитку клінічних симптомів, вираженість загально мозкових і гіпертензивних симптомів, тяжкість стану пацієнта, супутні соматичні захворювання мають прогностичне значення, їх необхідно враховувати при вирішенні питання щодо медикаментозної підготовки до операції, анестезіологічного забезпечення, післяопераційної інтенсивної терапії, проте, вони не є основними чинниками у визначенні тактики та обсягу хірургічного втручання. Фактори, що визначають хірургічну тактику на основі даних клініко-інструментальних досліджень, направлені на регрес клінічних проявів захворювання, неврологічного дефіциту, попередженню виникнення метастазів, нових вогнищевих неврологічних симптомів, дозволяють

покращити якість життя оперованих хворих. У комбінованому лікуванні при МБ хірургічне втручання, спрямоване на видалення максимального можливого об'єму пухлини, відіграє основну роль, забезпечує необхідний резерв часу для проведення подальшого лікування. Останніми роками суттєво покращилося технічне забезпечення, що дозволяє збільшити радикальність видалення МБ за мінімального пошкодження навколишніх структур ГМ. Сучасні хірургічні технології передбачають високу точність інструментальних маніпуляцій, мінімізацію хірургічної травми, максимальне збереження структур ГМ, безпечність операції; це дозволяє покращити якість життя хворих, збільшити тривалість безрецидивного періоду.

Використання сучасної мікрохірургічної техніки є обов'язковим у хірургічному лікуванні хворих при МБ і забезпечує хороші результати, навіть при видаленні пухлин в ділянці IV шлуночка з поширенням на стовбур ГМ, в ділянці водопроводу, мосто-мозочкового кута. Мікрохірургічна техніка при видаленні МБ дозволяє мінімізувати хірургічну травму, одночасно збільшивши радикальність втручання, що, за даними літератури [159,289] і нашими результатами, сприяє покращенню як найближчих, так і віддалених результатів лікування. Незважаючи на високу злоякісність МБ, тривалість життя хворих залежить від радикальності хірургічного втручання.

Метод ультразвукової аспірації (УЗА), поряд з сучасними мікрохірургічними технологіями, які використовують при видаленні МБ, сприяє збільшенню радикальності втручань, мінімальній травматизації навколишніх структур ГМ, прискоренню видалення новоутворення. При традиційній механічній аспірації тканина пухлини втягується в просвіт аспілятора за рахунок зниженого тиску. Проте, щільні тканини волокнистої структури вакуумним методом видалити практично неможливо. При цьому виникає значна деформація навколишньої тканини ГМ, відсутня чітка диференціація з тканиною новоутворення. При УЗА відбувається одночасне розсічення і локальне руйнування тканин з мінімальною їх деформацією. Розмір аспірованих частинок менше діаметра вхідного отвору аспілятора. За

даними гістологічного дослідження тканин, видалених за допомогою УЗА, о локальні зміни у них є фізіологічно припустимими, розмір зони змін у тканині ГМ, у тому числі, оборотних, не перевищує 0,1 мм. Використання УЗА забезпечує достатню візуалізацію операційного поля: тканина пухлини може бути видалена безпосередньо на межі з функціонально важливими структурами ЗЧЯ за наявності в рані тільки одного інструмента. При цьому відсутні такі маніпуляції як тракція, термічний ефект, що робить УЗА пухлини безпечною для навколишніх тканин.

Сучасні нейрохірургічні ультразвукові аспіратори поєднують функції дезинтеграції, аспірації, іригації. Руйнуванню патологічно змінених тканин і пухлин сприяє процес кавітації, що виникає в ділянці виконання операції внаслідок взаємодії кінчика аспілятора, що здійснює ультразвукові коливання, і рідкого середовища. При цьому видаляються переважно патологічні паренхіматозні утворення, сполучнотканинні структури і структури з великою кількістю еластичних волокон (судини), не пошкоджуються, тобто УЗА — це локальний вплив, фізіологічно припустимий на певних частотних режимах. Швидкість УЗА залежить від консистенції пухлини. Ми використовували ультразвуковий аспіратор нового покоління, в якому можна змінювати робочу частоту від 25 до 55 кГц (“Sonoca-300”, фірми Soering, Німеччина), що дозволяє селективно впливати на щільні ділянки пухлини пухлинні (зокрема, при рецидивах МБ, для яких характерний надлишок стромы внаслідок рубцювання, гіалінозу, звапнення).

Підготовка хворих з МБ до операції практично не відрізняється від загальноприйнятих методів підготовки при інших пухлинах задньої черепної ями. У хворих з вираженим гіпертензійного-гідроцефальний синдромом до операції проводили дегідратаційну терапію, якщо не було ознак «згущення» крові ($Ht > 48$). У випадках, коли за даними АКТ або МРТ визначався виражений перифокальний набряк навколо пухлини або перивентрикулярний набряк, за 1-3 доби до операції хворим призначався дексаметазон по 8 мг 2 рази на добу. Слід уникати введення в організм хворого одночасно великої

кількості рідини, так як можливо провокування різких гіпертензійного нападів.

З урахуванням того, що в ряді спостережень відзначалася виражена гідроцефалія, а доопераційна діагностика не дозволяла гарантувати радикальне видалення пухлини та відновлення лікворовідтоку, у 18 хворих операція починалася з пункції заднього рогу бокового шлуночка (9%). Слід зазначити, що в останні роки з поліпшенням діагностики пухлин задньої черепної ями та анестезіологічного забезпечення оперативних втручань при цій патології, все рідше використовується ця далеко не байдужа і травматична хірургічна маніпуляція.

Всі оперативні втручання проведені в горизонтальному положенні на боці. При розташуванні пухлини в латеральних відділах задньої черепної ямки (ЗЧЯ) голова хворого дещо опускалась до нижнього плеча, так звана “park bench” позиція. Використовувались наступні субокципітальні доступи: срединний, парамедіанний та медіодіагональний. Проводилась резекційна, а в останні роки кістково-пластична трепанація луски потиличної кістки. Орієнтирами трепанаційного вікна при переважно латеральному розташуванні пухлини є поперечний синус вгорі і його перехід в сигмоподібний, латерально соскоподібний відросток і сигмоподібний синус, медіально - середня лінія. При МБ IV шлуночка хворі були оперовані в положенні на правому боці, як більш фізіологічному. Використовувався срединний доступ до утворень ЗЧЯ. Межами трепанаційного вікна був рівень поперечного синуса і приблизно на 2-3 см в сторони від середньої лінії. З урахуванням того, що переважна більшість пухлин були великих розмірів, розміри трепанаційного вікна були приблизно 4 x 4 або 4 x 5 см. При значному напруженні твердої мозкової оболонки та опущенні мигдаликів мозочку проводилась резекція заднього напівкільця атланта та випускався ліквор з великої потиличної цистерни. В останні роки при незначному опущенні мигдаликів мозочку резекція заднього напівкільця атланта не

проводилась та під оптичним збільшенням розтиналась атланта-потилична мембрана з метою евакуації ліквора. При розташуванні пухлини в ділянці хробака та IV шлуночка тверда мозкова оболонка розкривалась V-подібно, при розташуванні пухлини в латеральних відділах ЗЧЯ – X-подібно або У-подібно. У 10 спостереженнях на цьому етапі була виявлена пухлинау великій потиличній цистерні і між мигдалинами мозочка, яка через отвір Мажанді поширювалася в порожнину IV шлуночка. Подальші етапи операції виконувались з застосуванням мікрохірургічної техніки. Хробак мозочку розтинався продольно в залежності від переважного розташування пухлини, при латеральному розташуванні пухлини кора півкулі мозочку розтиналась уздовж горизонтальної щілини. Після розтину даху IV шлуночка оголюється задня поверхня пухлини. Півкулі мозочка ізолюються ватниками і шпателями розсуваються. Враховуючі великі розміри пухлин у значній більшості пацієнтів, спочатку проводилось видалення центральних відділів пухлини. Використання УЗ-аспірації на цьому етапі, значно прискорює видалення, зменшує крововтрату та травматизацію. Після видалення центральних відділів медулобластом проводилось виділення пухлини по перифокальній зоні поетапним видаленням фрагментів.

При пухлинах в ділянці IV шлуночку вкрай важливо ідентифікувати межу неушкоджених пухлиною стовбурових відділів мозку, а потім обережно відокремлювати пухлину від дна IV шлуночка. Ділянки інфільтрації дна IV шлуночка повинні бути залишені. При розповсюджені МБв ділянку отвору Мажанді, мигдаликів мозочку, нижніх відділів хробака потрібно виділити та зберегти задні нижні мозочкові артерії, що приймають участь у кровопостачанні пухлини. Неприпустимо порушення піальних судин стовбура мозку. Обсяг видалення капсули пухлини визначався в кожному випадку індивідуально. Якщо на цьому етапі виникали порушення ритму серця, перепади артеріального тиску, проводити подальше видалення пухлини вкрай небезпечно. У зв'язку з цим необхідний постійний інтраопераційної моніторинг вітальних функцій і відповідне анестезіологічне

забезпечення. При поширенні МБ донизу в велику потиличну цистерну і хребтовий канал проводилось поступове видалення МБ з відокремленням її від дорзальної і бічної поверхні довгастого і спинного мозку, початкових відділів IX-X-XI черепних нервів, задніх корінців C1 і C2 і рідко задньої поверхні хребтової артерії

При поширенні пухлини в ділянку мосто-мозочкового кута, вона має тенденцію до обростання черепних нервів, найчастіше IX-XI та VII-VIII, передньої нижньої мозочкової артерії. Тому видалення пухлини проводилось вкрай дрібними фрагментами для запобігання пошкодження вищезначених структур. Якщо виявити черепні нерви не вдавалося, то після максимального відділення пухлини від зовнішніх відділів гемісфери мозочка, з урахуванням можливого обростання корінців, початковим етапом віддалялися ділянки пухлини в задньо-верхніх відділах новоутворення. Видалення центральних відділів пухлини проводилося за допомогою аспіратора. Після кожного додаткового етапу видалення центральних відділів МБ, нижній полюс пухлини зміщувався догори. При появі корінців IX-X-XI нервів, останні ізолювалися ватником. Видалявся нижній полюс МБ. В подальшому проводилося спроби відділення пухлини від бічної поверхні довгастого мозку і бічної поверхні моста, виділялися VII-VIII нерви, задня нижня і передня нижня мозочкові артерії. При виявленні на нижньому полюсі пухлини корінців тільки XI нерва, видалення пухлини здійснювалося невеликими порціями, починаючи з верхніх відділів і поступово переходячи до ділянок пухлини у бічній поверхні довгастого мозку і області яремного отвору, до тих пір, поки не були ідентифіковані IX-X нерви. Після цього проводилось відділення корінців останніх з пухлинної тканини. Дуже важливо дбайливе відділення нервів від капсули пухлини без пошкодження епіневрію з його судинами. Видалення верхніх ділянок дозволяє звільнити вирізку намету і відновити лікворциркуляцію. При цьому пухлина відокремлювалася від трійчастого і блоковидного нервів, а також верхньої мозочкової артерії. Вищезначені структури, як правило, знаходилися під арахноїдальною

оболонкою. Видалення ділянок пухлини, прилеглих до стовбура мозку, черепних нервів і магістральних судин, здійснювалося вкрай обережно і в кожному випадку індивідуально.

Для проведення гемостазу використовувались Surgicell, раніше гемостатична губка. Тверда мозкова оболонка ушивалась щільно. Пошарове ушивання м'яких тканин проводиться за загальноприйнятою методикою, що і при інших пухлинах ЗЧЯ.

Використання мікрохірургічних методик та УЗА дозволило оптимізувати контрольоване видалення тканини новоутворення; полегшити гемостаз під час операції поряд з використанням сучасної мікрокоагуляції; зменшити травматизацію навколишніх структур ГМ; зберегти функціонально важливі судини в ділянці ЗЧЯ; підвищити радикальність хірургічного видалення МБ.

Використання сучасних нейрохірургічних технологій за останні 10 років дозволило значно покращити найближчі результати хірургічного лікування, підвищити якість життя хворих, збільшити тривалість безрецидивного періоду (табл. 7.1, рис. 7.1).

Таблиця 7.1.

Порівняння радикальності та термінів безрецидивного виживання медулобластом у дорослих у різні періоди дослідження

Показник	1998–2000 рр. (n=101)	2001–2013 рр. (n=96)
Тотальне видалення	44 (43,6%)	78 (81,2%) *
Субтотальне видалення	23 (22,7%)	7 (7,2%)
Часткове видалення	34 (33,6%)	11 (11,5%)*
Післяопераційна летальність	8 (7,9%)	0 (0%)*
Медіана безрецидивного виживання (за Каплан-Мейер), міс.	21	42*

Примітка. * — різниця показників між групами є статистично значущою ($p < 0,05$).

Використання сучасного нейрохірургічного обладнання та технологій дозволило зменшити післяопераційну летальність до нуля, вдвічі збільшивши радикальність втручань, що свідчить про певний прогрес у лікуванні дорослих осіб при МБ за останні 13 років.

Удосконалення хірургічних методів видалення пухлин є одним з факторів покращення не тільки найближчих результатів лікування, але й збільшення тривалості безрецидивного періоду. Збереження / покращення якості життя хворих за рахунок мінімізації хірургічної травми сприяє скороченню строків їх лікування у стаціонарі, дозволяє швидко розпочати ад'ювантне лікування.

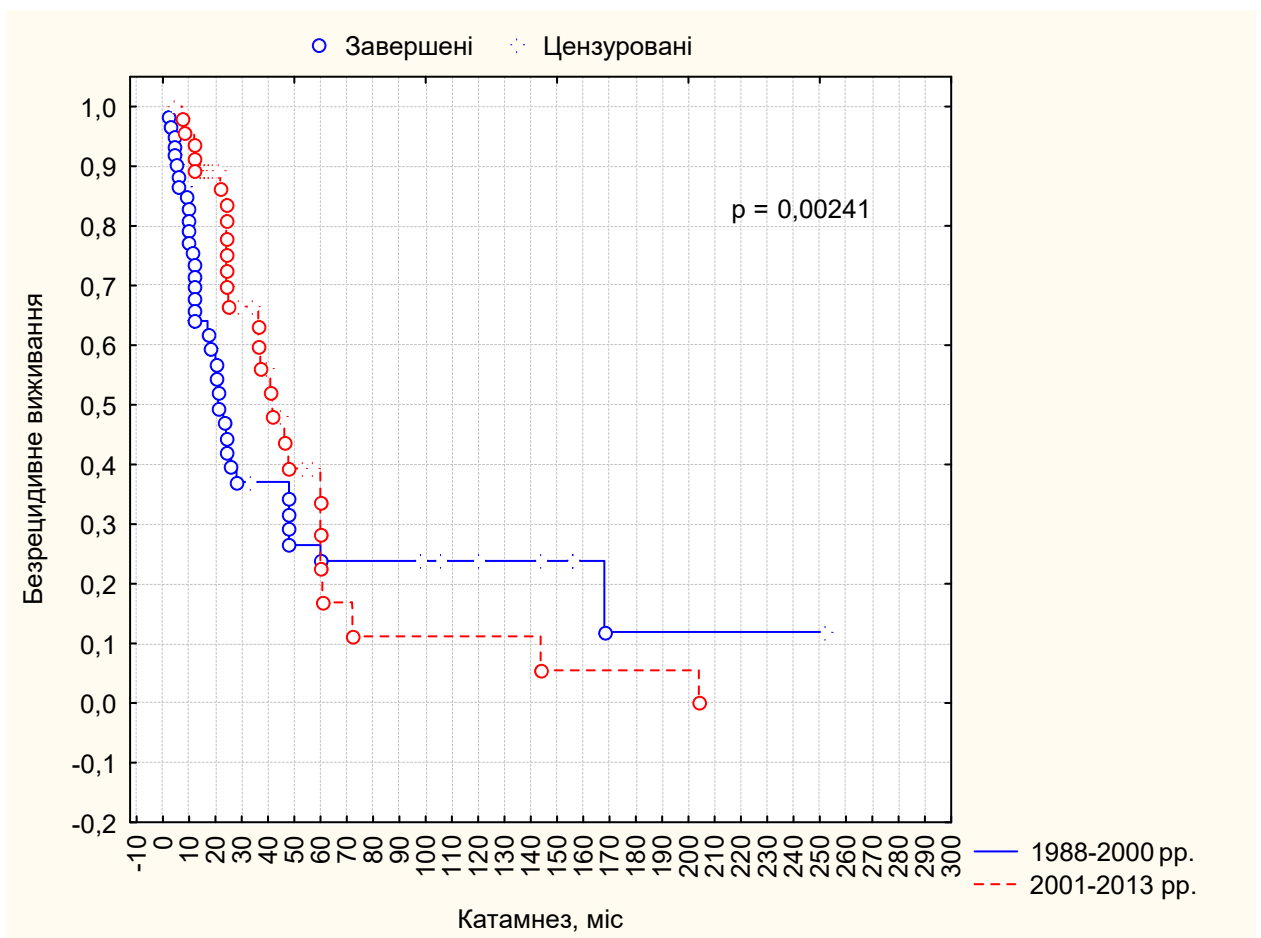


Рис. 7.1. Тривалість безрецидивного періоду у хворих, оперованих у 1998–2000 рр. і 2001–2013 рр. (метод Каплан–Мейєра).

Аналізуючи результати комбінованого лікування всієї групи медулобластом мозочка дорослих слід зазначити, що було проведено 197 первинних і 42 повторних оперативних втручання, спрямованих на видалення пухлини в задній черепній ямці. У 18 (9,1%) пацієнтів видалення пухлини було доповнено однобічною вентрікулоцистерностомією. Ликворошунтуючі операції проводилися першим етапом перед видаленням пухлини рідко, тільки в 3 -х випадках. МБ видалена тотально (по перифокальній зоні росту) у 122 (62%) пацієнтів, субтотально — у 30 (15,2%), частково — у 45 (22,8%). Об'єм видалення пухлини визначався анатомотопографічними особливостями пухлини, такими як вростання пухлини в стовбур ГМ, поширення пухлини через отвір Люшка в ділянку мосто-мозочкового кута з обростання функціонально і життєво - важливих судин і нервів. Залежність повноти обсягу видалення пухлини від цих анатомо - топографічних особливостей представлена в таблиці 7.1.1, де порівнюється групи пухлин з поширенням в стовбур головного мозку або в мосто-мозочковий кут.

Таблиця 7.1.1.

Залежність об'єму видалення пухлини від її анатомо - топографічних особливостей медулобластом

Анатомо-топографічні особливості	Об'єм видалення		
	Тотальне	Субтотальне	Часткове
Пророщення пухлиною стовбурових відділів мозку (n=42)	-	25 (59,5%)	17 (40,5%)
Поширення пухлини в мосто-мозочковий кут (n=7)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	4 (57,1%)

У жодного з 42 хворих з МБ, які проростали у стовбур ГМ, пухлини не видалені тотально, у 25 (59,5%) спостереженнях здійснено субтотальне видалення. Пухлини з поширенням в мосто-мозочкий кут видалялись як тотально, так і частково. Обсяг видалення в ряді випадків був обмежений через рясно васкуляризовану паренхіму пухлини і значною крововтратою, що призводило до часткового видалення. Кістозний компонент, який би полегшував видалення пухлини при медулобластомах мозочка у дорослих, зустрічався рідко, лише в 3 спостереженнях.

Ще одним підтвердженням необхідності використання сучасних технологій при хірургічному видаленні МБ є аналіз причин післяопераційної летальності (8 хворих), яка спостерігалась в період до 2000 року. Так, у 3 (37,5%) пацієнтів, які померли після операції, пухлина видалена тотально, в 1 (12,5%) — субтотально, у 4 (50%) — частково. 4 (50%) хворих померли внаслідок ішемічних порушень у стовбурових відділах ГМ, 2 (12,5%) — через виникнення гострої гематоми у ложі видаленої пухлини, смерть 2 (25%) пацієнтів спричинена виникненням менінгоенцефаліту. Переважна більшість летальних випадків обумовлена ішемічними чи геморагічними ускладненнями після видалення пухлини.

Таким чином, аналіз умов і обставин, які визначають можливість тотального та часткового видалення МБ у дорослих осіб, свідчить про важливу роль локалізації та поширення пухлини, проростання стовбуру ГМ, особливостей васкуляризації та щільності пухлинної паренхіми. Застосування сучасних нейрохірургічних технологій та висока кваліфікація нейрохірургів дозволяють проводити контрольоване видалення тканини новоутворення з мінімальною травматизацією навколишніх структур ГМ, що суттєво підвищило радикальність операцій, покращило якість життя хворих та дозволило домогтись відсутності післяопераційної летальності.

7.1. Катамнез життя хворих при МБ після комбінованого лікування

Катамнез вивчений у 109 (55,2%) хворих від загальної кількості спостережень.(рис. 7.1.1). Катамнез до 1 року відомий у 43 (39,5%) пацієнтів, від 1 до 3 років — у 33 (30,2%), від 3 до 5 років — у 18 (16,5%), більше 5 років — у 15 (13,8%). Таким чином, серед пацієнтів з відомим катамнезом у 70% пацієнтів відомий лише 3-річний період спостереження.

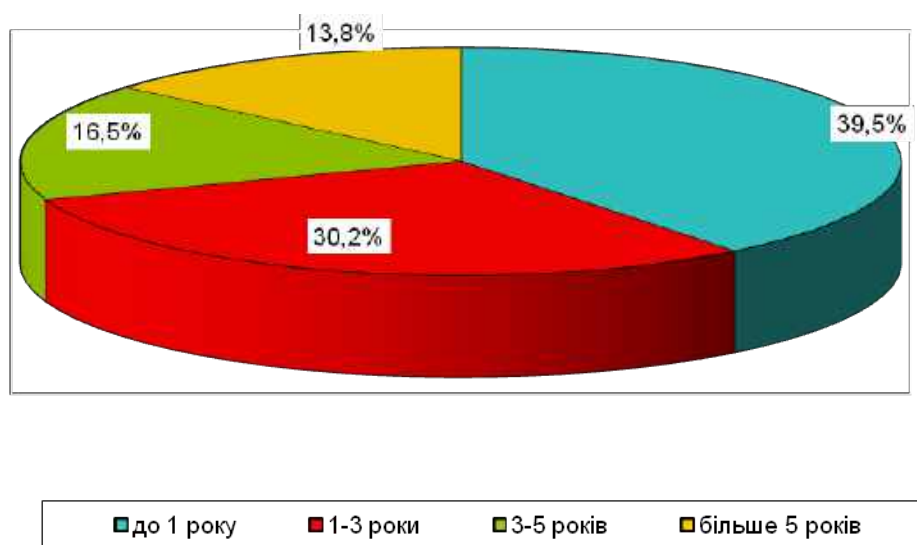


Рис. 7.1.1. Розподіл спостережень за тривалістю катамнезу.

Продовжений ріст або метастазування МБ у різні строки спостереження (переважно у перші 3 роки) виявлені у 52 (47,7%) пацієнтів з відомим катамнезом, зокрема, продовжений ріст в зоні операції — у 38 хворих, метастази по шлуночковій системі ГМ і спинному мозку — у 14. Зіставлення частоти виникнення рецидивів і загального числа пацієнтів у різні терміни катамнестического спостереження представлені на рис. 7.1.2.

У перші 3 роки спостереження відзначено 71% випадків продовженого росту або метастазування МБ, причому більшість з них — протягом 1-го року спостереження. Середній термін до виникнення рецидивів $35,7 \pm 4,4$ місяці (від 2 до 252 міс).

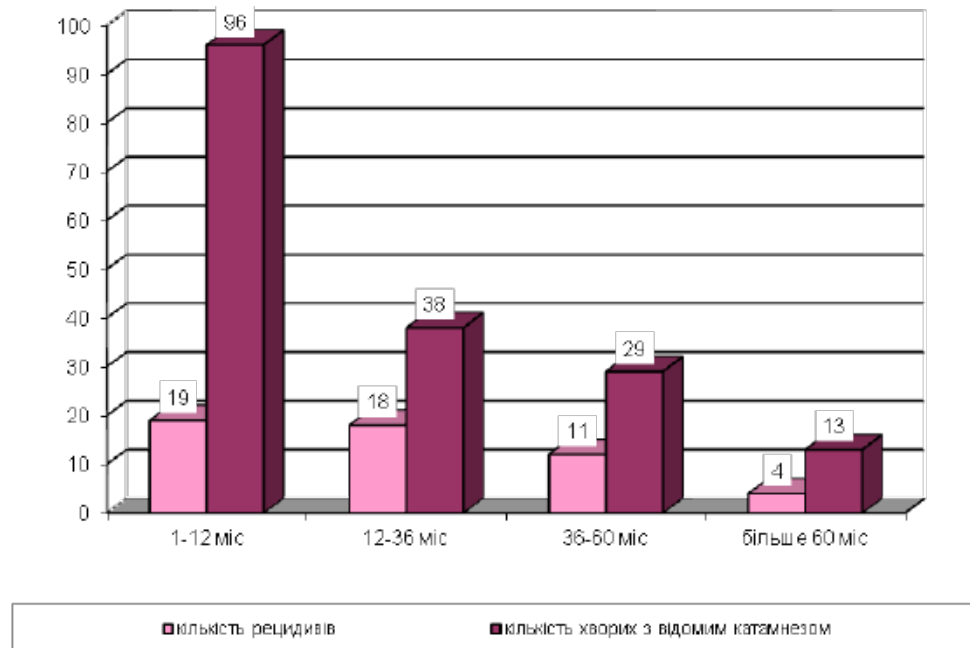


Рис. 7.1.2. Продовжений ріст і метастазування МБ у різні строки після операції.

Всім пацієнтам проведено стандартизоване лікування, що включало оперативне втручання та краніоспінальну ПТ. Це дозволяє проаналізувати віддалені результати з метою визначення чинників, що впливають на прогноз і ефективність лікування.

Вживання хворих різного віку і статі. Співвідношення чоловіків і жінок склало 60,9% (n=120) і 39,1% (n=77) відповідно. На рис. 7.1.3 представлені криві безрецидивного виживання чоловіків і жінок при МБ. Медіана безрецидивного періоду у жінок становила 44 міс, у чоловіків — 27 міс. Деякі автори [7] пояснюють цей факт протективною дією жіночих статевих гормонів, вплив яких, можливо, віддаляє час виникнення рецидиву.

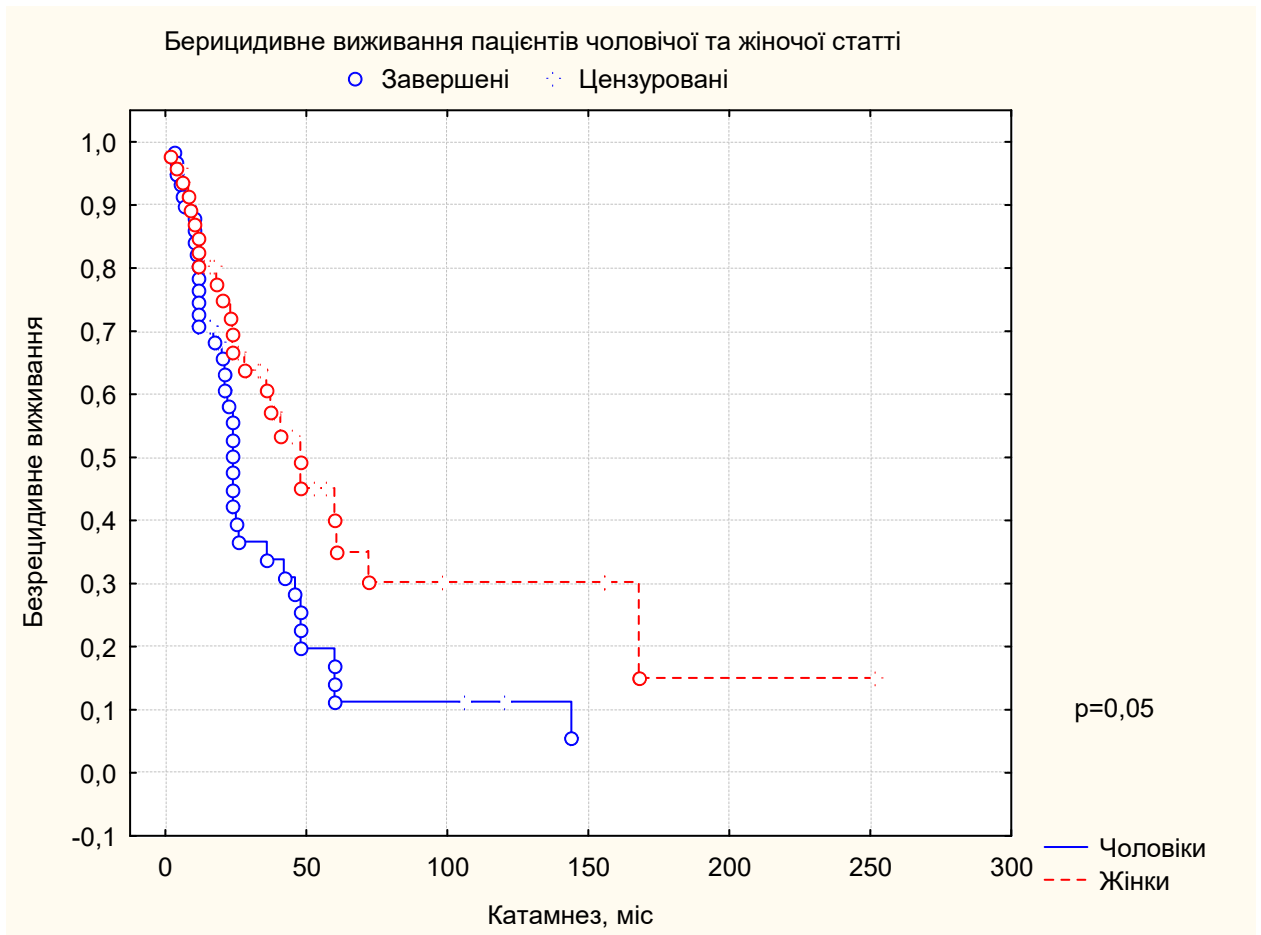


Рис. 7.1.3. Тривалість безрецидивного періоду (міс) при МБ залежно від статі хворих (розподіл за Каплан–Мейєром).

Для аналізу вікових особливостей безрецидивного виживання, хворі розподілені на 2 групи: від 16 до 30 років — 115 спостережень, 31 рік і старше — 82. Медіана безрецидивного періоду у хворих віком 16–30 років становила 39 міс, 31 рік і старше — 30 міс (рис. 7.1.4).

Тривалість безрецидивного періоду пацієнтів у віці до 30 років (39,7 міс) значно перевищує тривалість безрецидивного періоду у пацієнтів старше 30 років, що не підтверджує гіпотезу про більш агресивний перебіг захворювання у осіб молодого віку.

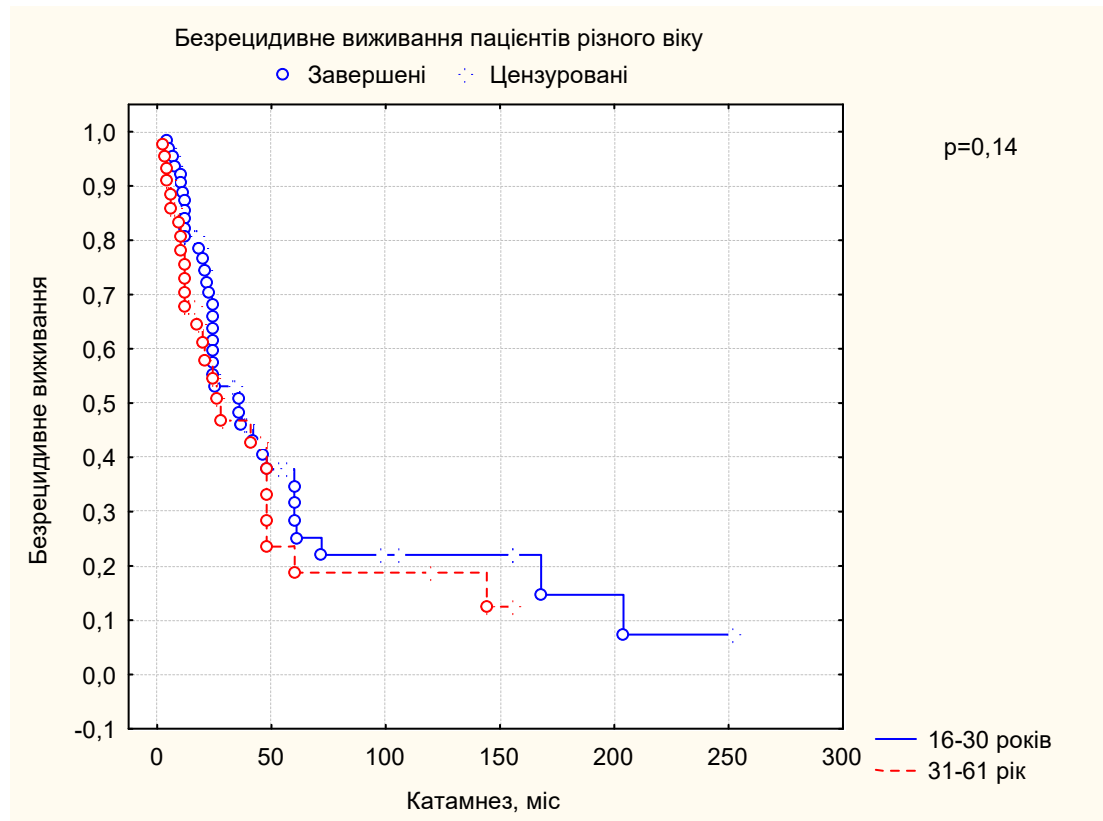


Рис. 7.1.4. Тривалість безрецидивного періоду (міс) при МБ залежно від віку хворих (розподіл за Каплан–Мейєром).

Виживання пацієнтів з урахуванням класифікації МБ за Chang. Класифікація МБ за Chang — це розподіл спостережень залежно від розмірів пухлини, проростання стовбуру ГМ, наявності гідроцефалії і метастазування.

Метастазування на момент встановлення первинного діагнозу (стадія M_1 – M_3) виявлені у 3 (1,8%) пацієнтів, результати лікування у них були найгіршими, тривалість безрецидивного періоду — від 4 до 8 міс.

Решту пацієнтів, залежно від розмірів пухлини та її поширення, розподілили на 2 групи: 1) розмір МБ до 3 см, без проростання у стовбур ГМ (T_1M_0 – $T_{3a}M_0$); 2) розмір пухлини 3 см і більше, з проростанням у стовбур ГМ ($T_{3b}M_0$ – T_4M_0) (рис. 7.1.5).

Медіана безрецидивного періоду при пухлинах стадій T_1 – T_{3a} становила 42,5 міс, стадій T_{3b} – T_4 — 24 міс. Таким чином, менший розмір пухлини і

відсутність проростання у стовбур ГМ сприяють збільшенню тривалості безрецидивного періоду.

Наявність метастазів на момент встановлення діагнозу (стадія M₁–M₄), пов'язана з швидким прогресування захворювання, медіана таких хворих становила 8 міс.

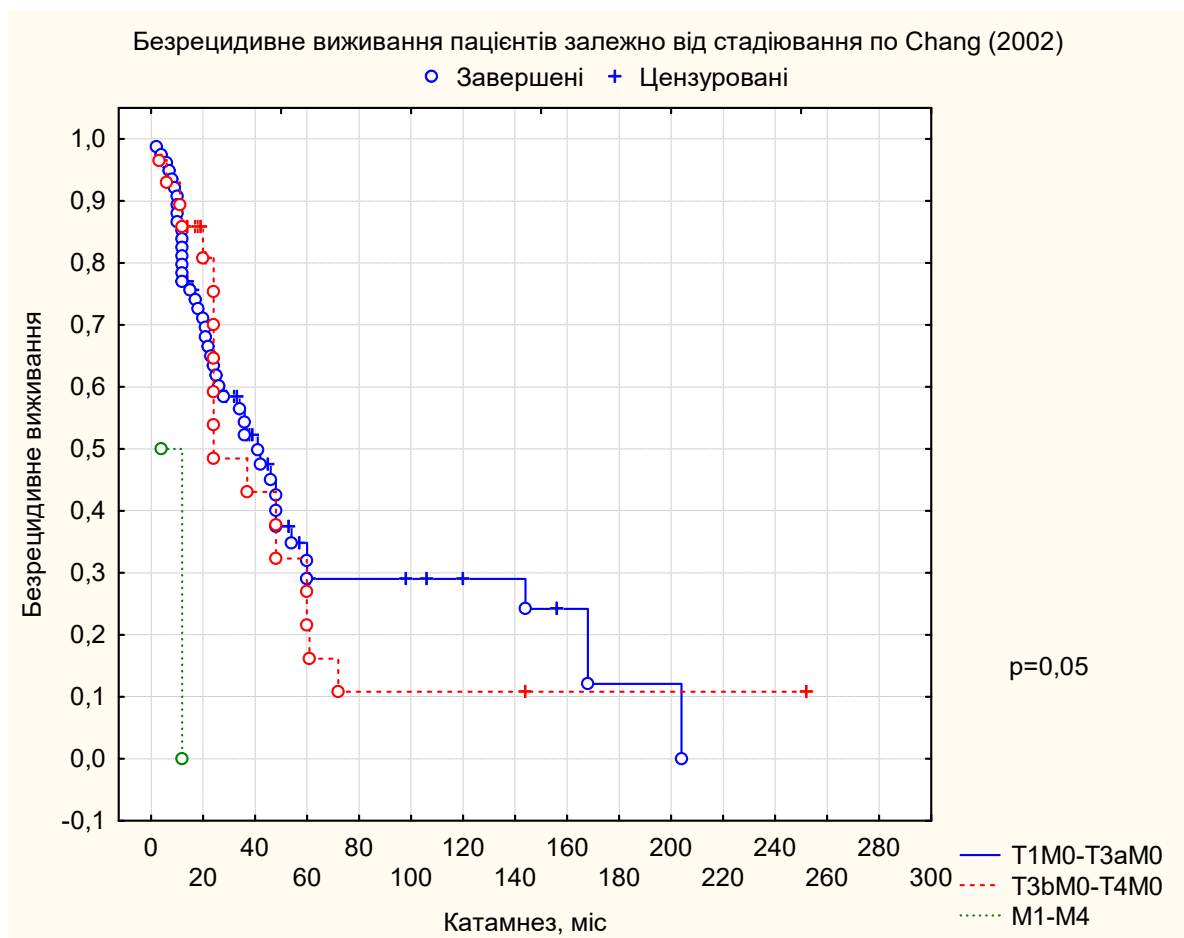


Рис. 7.1.5. Тривалість безрецидивного періоду (міс) з урахуванням класифікації МБ за Chang (розподіл за Каплан–Мейєром).

Серед дослідників немає єдиної думки щодо зв'язку радикальності хірургічного втручання та тривалості безрецидивного періоду. Ми проаналізували тривалість безрецидивного періоду залежно від радикальності операції (рис. 7.1.6).

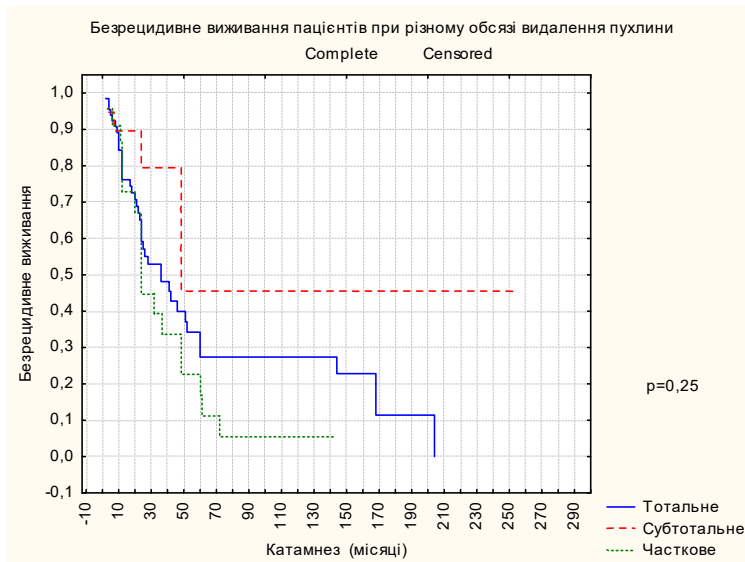


Рис 7.1.6. Тривалість безрецидивного періоду (міс) при МБ залежно від радикальності хірургічного втручання.

Найкращі результати спостерігали за радикального видалення пухлини. При тотальному видаленні МБ медіана тривалості безрецидивного періоду становила — 38 міс, при субтотальному — 48 міс, при частковому — 24 міс. Підвищення радикальності хірургічних втручань сприятливо позначається на тривалості безрецидивного періоду. В той же час, дещо несподіваним виявився той факт, що тотальне видалення пухлини забезпечує меншу тривалість безрецидивного періоду, ніж субтотальне. Можливо, це пов'язане з тим, що більш радикальне видалення пухлини може спричинити травматизацію навколишніх структур ГМ, зумовлює більш тяжкий перебіг післяопераційного періоду, затримку виписування з стаціонару та початку ПТ. Це може пояснити більшу тривалість безрецидивного періоду при субтотальному видаленні МБ, ніж при тотальному.

Пухлину видаляли частково, якщо вона проростала у стовбурові відділи ГМ, мосто-мозочковий кут, при виникненні інтраопераційної кровотечі. Ці ускладнення зумовлювали поглиблення неврологічного дефіциту, тяжкості стану хворого після операції. Після тотального видалення МБ більше 21 доби у стаціонарі перебували тільки 27 (22,1%) пацієнтів, після часткового — 26 (57,7%) через більш тяжкий перебіг післяопераційного періоду. Довготривале

перебування в стаціонарі часто було обумовлено анатомо-топографічними особливостями пухлин і насамперед проростанням стовбурових відділів головного мозку, що обумовлювало нерадикальне видалення пухлини і розвиток значного неврологічного дефіциту після операції.

Крім тривалості безрецидивного періоду, іншим важливим показником ефективності лікування є якість життя хворих за шкалою Карновського (ШК) (табл. 7.1.2). При госпіталізації стан 155 (78%) пацієнтів оцінений як задовільний або відносно задовільний. Найбільш значне погіршення стану хворих відзначали після часткового видалення пухлини — менше 70 балів за ШК у 15 (33%) спостережень. Глибока інвалідизація відзначена після часткового видалення у 1 (2,2%) пацієнта. У той же час після тотального видалення МБ стан 102 (85%) хворих оцінений більше 70 балів за ШК, після субтотального — 24 (80%). В ранньому та віддаленому післяопераційному періоді спостерігались такі ускладнення: стато-координаторні розлади, дизартрія, церебелярний мутизм, порушення функції черепно-мозкових нервів. Найчастіше виникала дисфункція відвідного нерву. Звертає на себе увагу, що порушення функції відвідного нерва після операції виникає частіше, ніж відзначена зв'язок капсули з цим нервом. Це можна пояснити високою чутливістю цього нерва навіть до незначних маніпуляцій, а також значною вираженістю гіпертезійно-гідроцефального синдрому.

Таблиця 7.1.2.

Оцінка стану хворих за шкалою Карновського після хірургічного лікування

Оцінка стану за ШК, балів	Період оцінки стану пацієнта							
	При госпіталізації (n=197)		Після операції в залежності від радикальності					
			Тотальне видалення (n=122)		Субтотальне (n=30)		Часткове (n=45)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Більше 80	79	40	20	17,8	4	13,3	6	13,3
80–70	76	38,6	82	67,2	20	66,6	24	53,3
70–60	42	21,2	20	15	6	20	14	31,1
Менше 60	—	—	—	—	—	—	1	2,2

Таким чином, аналізуючи результати хірургічного лікування МБ мозочка у дорослих, можна відзначити, що найбільш оптимальною методикою видалення цих пухлин є субтотальне видалення. Спроби тотального пухлини приводили до летальності в ранньому післяопераційному періоді. Прагнення до високого радикалізму можна пояснити і продиктовано рядом обставин, такими як можливість продовженого росту пухлини і необхідність в майбутньому повторних операцій. Обмежена радикальність обумовлена, в першу чергу локалізацією і анатомо-топографічними взаємовідносинами пухлини, а по-друге особливостями кровопостачання пухлини.

Більша радикальність хірургічного втручання забезпечує більшу тривалість безрецидивного періоду. Час перебування у стаціонарі найбільший після часткового видалення пухлини. Оптимальні результати лікування за якістю життя досягнуті при тотальному і субтотальному видаленні МБ.

Отже, проведений аналіз хірургічного лікування МБ у дорослих хворих дозволяє зробити певні висновки. По-перше, важливим чинником ефективного лікування таких хворих є наявність сучасного діагностичного та нейрохірургічного обладнання, використання якого після 2000 р. сприяло підвищенню радикальності операції, зниженню післяопераційної летальності до нуля. По-друге, на радикальність видалення МБ впливають їх локалізація, поширення, особливості васкуляризації пухлини та навколишніх ділянок ГМ. По-третє, радикальне видалення пухлин сприяє збільшенню тривалості безрецидивного періоду, покращенню якості життя хворих у післяопераційному періоді, що дозволяє раніше розпочати ПТ.

7.2. Променева терапія

Практично всі пацієнти - 193 (98%) після проведення хірургічного втручання отримали курс променевої терапії на головний мозок і хребетний канал.

ПТ проводили в усіх обласних центрах України за призначенням онкологів і радіологів. Обладнання для проведення ПТ у різних відділеннях було різним. Стандартним було краніоспінальне опромінення в дозі 40–60 Гр на зону операції, по 10–15 Гр на кожний відділ спинномозкового каналу і шлуночки ГМ.

ПТ проводили безпосередньо після виписки з нейрохірургічного стаціонару. За наявності у хворого тяжких неврологічних порушень питання щодо тактики і термінів проведення променевої терапії вирішували

індивідуально, після узгодження з променевим терапевтом. Середній термін до початку променевої терапії після операції становив 22 доби (від 8 до 35 діб).

ПТ проводили в статичному режимі та режимі ротації; у 2 етапи. Перший етап — опромінення всього краніоспінального простору з 2 протилежних полів. ГМ, включаючи конвексимальні та базальні субарахноїдальні простори, опромінювали з двох статичних полів. Розмір поля відповідає розмірам черепа, включаючи ЗЧЯ, ділянку продірявленої пластинки, спінальний простір до С₂ хребця. Щоденна вогнищева доза — до 1,8 Гр максимум, сумарна вогнищева доза — 35–36 Гр.

Одночасно опромінювали весь спинний мозок від С₂ до S₃. Шийний відділ опромінювали з двох бічних полів. Решту спинного мозку розділяли на 2–3 рівні. Опромінення проводили у статичному однопільному режимі. Сумарна доза на спинний мозок становить 35–36 Гр. Глибина залягання спинного мозку визначається за даними МРТ або стереорентгенографії.

У хворих групи високого ризику вогнищеву дозу на метастази у спинномозковому каналі доводили до 40 Гр.

Другим етапом опромінювали всю ЗЧЯ. Разова вогнищева доза — 1,8 Гр. Вогнищеву дозу розраховували по 80% ізодози. Опромінення проводили в режимі секторного коливання.

За наявності у хворого тяжких неврологічних порушень тактику ПТ визначали індивідуально. При цьому можливе опромінення ЗЧЯ першим етапом, всього краніоспінального простору — другим етапом.

Тривалість опромінення становила 6–7 тиж.

ПТ розпочинали в терміни від 9 до 45 діб після операції. Одразу після виписування хворого з нейрохірургічного стаціонару. За даними літератури, затримка проведення ПТ зумовлює погіршення прогнозу виживання пацієнтів [7]. Для зручності аналізу спостереження з відомим катамнезом розділені на 2 групи:

- 1) тривалість перебування у стаціонарі менше 21 доби після операції;
- 2) 21 доба і більше (рис. 7.2.1).

Результати аналізу показали, що медіана безрецидивного виживання при перебуванні хворого в стаціонарі до 21 дня після операції становила 42 місяці, понад 21 день — 36 місяців (різниця є статистично незначущою). Подовження терміну перебування в стаціонарі і, відповідно, пізніший початок променевої терапії приводили до зменшення тривалості безрецидивного періоду.

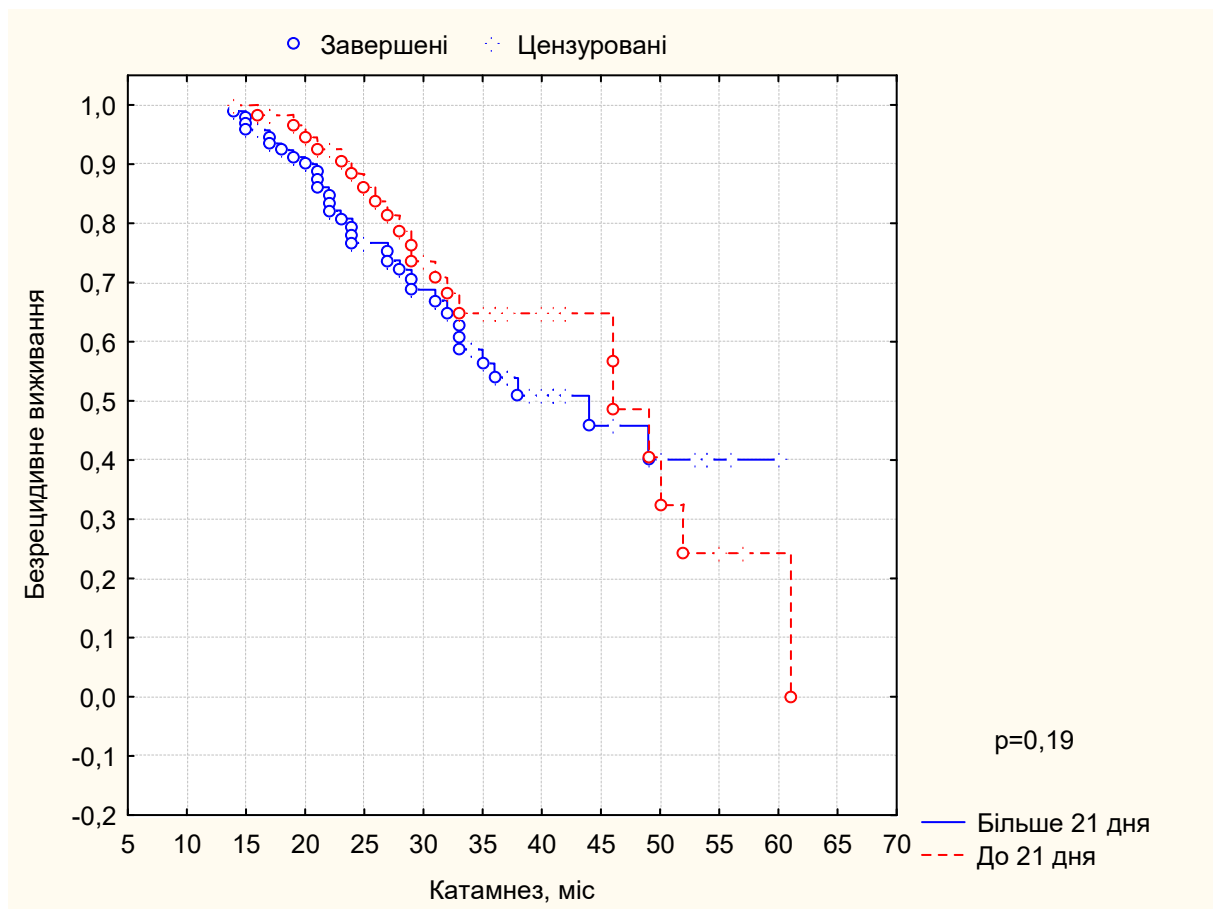


Рис. 7.2.1. Тривалість безрецидивного періоду (міс) залежно від строків лікування хворого у стаціонарі.

Доза ПТ визначена у 27 спостереженнях (дані медичної документації), проте, не в усіх хворих відомі дози на кожен відділ ГМ і спинного мозку. У дослідження включені клінічні спостереження починаючи з 1988 р. З того часу змінилися обладнання і методики ПТ, тому дози опромінення могли

дещо відрізняться. Однак в усіх хворих радіологи дотримувалися стандартної схеми краніоспінального опромінення при МБ: 54–60 Гр на зону операції, по 12 Гр — на кожний відділ спинномозкового каналу і шлуночки ГМ.

У 13 пацієнтів загальна доза опромінення була менше 100 Гр, тривалість без рецидивного періоду становила ($25,6 \pm 6,2$) міс; у 14 хворих загальна доза перевищувала 100 Гр, безрецидивний період тривав ($45,6 \pm 12,1$) міс ($p < 0,05$).

Незважаючи на невелику кількість спостережень, можна зробити висновок, що середня тривалість безрецидивного періоду значно збільшується при загальній дозі краніоспінального опромінення понад 100 Гр та більш ранньому початку ПТ.

7.3. Хіміотерапія

Згідно «Протоколу діагностики та лікування медулобластом у дітей» (Наказ МОЗ України від 27.08.04 №429), рекомендовано проведення ХТ у пацієнтів при МБ. Зазначений протокол стосується пацієнтів дитячого віку, разом з тим, погляди спеціалістів щодо доцільності проведення ХТ у дорослих, різняться.

Протягом всього часу спостереження 16 (8%) пацієнтів отримали повний або частковий цикл ХТ. Різні підходи до проведення ХТ можна пояснити відсутністю єдності поглядів на доцільність проведення ХТ у дорослих при МБ як в Україні, так і у світі. Дослідження застосування ХТ на тлі і після ПТ показують, що ХТ покращує виживання хворих з поганим прогнозом. Факторами, які визначають поганий прогноз є: ранній вік (до 3-х років), наявність метастазів і неповне хірургічне видалення пухлини (залишок більш $1,5\text{см}^3$). Загально визнано, що хіміотерапія показана пацієнтам групи високого ризику з метастазуванням. В наших спостереженнях було 3 такі пацієнти. Незважаючи на проведення хіміотерапії та променевої терапії, безрецидивне виживання цих пацієнтів не перевищувало 8 місяців. Хоча більшість сучасних протоколів лікування, включаючи ХТ, призначені для

хворих групи високого ризику, в літературі є багато вказівок на можливу роль ХТ у пацієнтів за відсутності дисемінації. При лікуванні МБ, як правило, застосовують поліхіміотерапію (ПХТ).

Для проведення ПТ і ХТ пацієнтів направляли у лікувальні установи онкологічного профілю, у тому числі, Національний Інститут раку. ПХТ всім хворим призначалися тільки онкологами.

З огляду на наявність суворих вимог до відділень, де може проводитись ПХТ, у нейрохірургічному стаціонарі її не проводили. Доцільність призначення ХТ, її строки та протоколи визначали онкологи. Як правило, ХТ проводили в установах онкологічного профілю за місцем проживання пацієнта. ХТ за Міжнародним протоколом з НІТ-2000 проводили за кордоном, у Швейцарії та Росії.

У нейрохірургічному стаціонарі після оперативного втручання 9 пацієнтам ендолюмбально введений *метотрексат* у дозі 10–12,5 мг/м² препарат вводили тричі, через 3–4 дні. Хворі переносили цю процедуру задовільно. Метотрексат — цитостатик з групи антиметаболітів, антагоністів фолієвої кислоти, має виражену імуносупресивну дію, навіть у відносно низьких дозах, які не спричиняють значущої гематологічної токсичності. Завдяки цьому метотрексат ширше, ніж інші цитостатики з імуносупресивною активністю, застосовують у ПХТ при злоякісних новоутвореннях ГМ. Метотрексат синтезований у 1940-х рр. співробітником лабораторії Ледерле (нині “Pfizer”) Й. Суббарао, за хімічною структурою він близький до фолієвої кислоти і є антагоністом її антиметаболітів (тобто речовиною, близькою до природних продуктів обміну речовин, яка, має протилежну дію). Завдяки антифолієвому ефекту препарат пригнічує процес мітозу (впливає на S-фазу клітинного циклу), ріст активно проліферуючих тканин, зокрема, кісткового мозку, гальмує ріст злоякісних новоутворень. Механізм дії метотрексату пов'язаний з інгібуванням синтезу пуринових нуклеотидів ітимідилату за рахунок необоротного зв'язування дигідрофолатредуктази, що перешкоджає відновленню дигідрофолату в

активний тетрагідрофолат. Препарат більш активний по відношенню до клітин, які швидко діляться. Проникає через ГЕБ (залежно від дози). При інтратекальному введенні значна кількість препарату потрапляє в кровообіг. Інтратекальне введення метотрексату поряд з краніоспінальним опроміненням є основним методом профілактики спінальних drop-метастазів МБ.

Препарат нітрососечовини *ломустин* можна застосовувати для лікування хворих при злоякісних пухлинах ЦНС як режимі монотерапії, так і ПХТ. Механізм дії ломустину пов'язаний з алкілуванням та пошкодженням ДНК клітин пухлини. Препарат легко проникає через ГЕБ завдяки хорошій розчинності в ліпідах за практично повної відсутності іонізації при фізіологічних значеннях рН. Слід зазначити, що монохіміотерапія препаратами нітрососечовини суттєво не змінює показники виживання хворих при первинних гліомах, на відміну від ПТ [195].

Темозоломид (темодал) — один з небагатьох хіміопрепаратів, розроблених спеціально для лікування хворих при злоякісних гліомах. Хоча основним показанням для призначення темодалу є наявність у пацієнта мультиформної ГБ або злоякісної астроцитомі, останнім часом є спроби його застосування при МБ [76]. Темодал синтезований у 1984 р. у Великій Британії, має беззаперечні переваги перед іншими хіміопрепаратами. Темодал є невеликою за розмірами ліпофільною молекулою, яка легко проникає через ГЕБ і накопичується в тканині пухлини у терапевтичній концентрації. Основний механізм дії темодалу — метилювання ДНК і пригнічення механізмів її репарації, що спричиняє множинні розриви спіралі. Ця особливість темодалу дозволяє подолати хіміорезистентність МБ, яка досить швидко розвивається при лікуванні препаратами нітрососечовини. Темодал добре переноситься хворими, не спричиняє вираженої гематотоксичності. Так, у спостереженні №144, хвора Р-о, 25 років поступила з діагнозом МБ хробака та медіальних відділів гемісфер мозочку, що тампонує ІV шлуночок та вростає у стовбур мозку. Стадія за Chang -ТЗВМ0.

Анамнез захворювання — 12 міс, початок захворювання зі статокоординаторних розладів. За 2 міс до звернення до нейрохірурга у хворої з'явився головний біль.

В неврологічному статусі: спонтанний горизонтальний та вертикальний ністагм, хиткість у позі Ромберга, інтенційний тремор з 2-х боків. На очному дні без патологічних змін. Проведене часткове видалення Відразу після виписки з стаціонару хвора отримала курс КСПТ. Через 2 роки звернулась з приводу болі у грудному відділі хребта, слабкості у нижніх кінцівках. За даними МРТ у хворої діагностовано множинне метастазування по хребтовому каналу. Проведено повторний курс ПТ на хребтовий канал, що призвело до стабілізації захворювання. Але через рік у хворої з'явилися нові метастатичні вогнища у спинному мозку та хребцях. Була розпочата циклова ХТ з використанням темодалу. За даними МРТ відмічено зменшення кількості метастатичних вогнищ та їх розмірів. У цієї хворої було ще декілька епізодів прогресування захворювання, але періодична ХТ з використанням темодалу дозволила контролювати захворювання. Катамнез відомий у хворої від операції до моменту написання цієї роботи (8 років).

Протокол НІТ-2000 — це схема циклової ПХТ з використанням цисплатину, вінкрестину, ломустину, етопозиду, карбоплатину, метотрексату, циклофосфаміду, існує багато його модифікацій. При використанні протоколу НІТ-2000 у дорослих ми відзначили його високу токсичність. Так, у спостережені №73, хворий У-в, поступив з діагнозом МБ хробака та медіальних відділів гемісфер мозочку, що тампонує ІV шлуночок. Стадія за Chang -Т3аМ0. Проведене тотальне видалення пухлини. Відразу після виписки з стаціонару хворому проведена КСПТ. Після опромінення хворому була розпочата циклова ПХТ за протоколом НІТ-2000 за кордоном. Після другого циклу ПХТ хворий був доставлений з аеропорту у відділення субтенторіальної нейроонкології ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» з гіпертермією 38,5°-39,5°, порушенням свідомості до сопора. Проведена МРТ головного мозку та хребтового каналу

не виявило даних за продовжений ріст чи метастазування, шлуночки мозку не розширені. По даним загального дослідження крові виявлені панцитопенія, анемія та імуносупресія: НВ 76 г/л, еритроцити $1,2 \times 10^{12}$ г/л, лейкоцити $0,7 \times 10^9$ г/л. Після проведена МСКТ органів грудної діагностована у хворого двобічна абсцедуюча бронхопневмонія. Проведене цитологічне дослідження ліквора, атипові клітини не виявлені. Після тривалого лікування із застосуванням гемотрансфузій та потужної антибіотикотерапії стан хворого покращився. Був виписаний у задовільному стані, після чого хворому було проведено ще 2 цикла ПХТ за протоколом НІТ-2000. Через 24 місяці після операції за даними МРТ у хворого діагностовано вогнище продовженого росту в нижніх відділах хробака мозочку та ІV шлуночку $1,5 \times 1,2 \times 1,5$ см і множинні метастатичні вогнища у спинному мозку. З урахуванням відсутності гіпертензійно-гідроцефального синдрому, хворий був направлений на повторний курс КСПТ. Подальша доля хворого невідома.

Оцінці ефективності ХТ при МБ заважають кілька чинників, зокрема, специфічність пацієнтів нейроонкологічного профілю, необхідних лікувально-організаційних процедур при ПХТ злоякісних пухлин ГМ, жорстких вимог до відділень для проведення ПХТ. Це, в свою чергу, стримує застосування ХТ при МБ у дорослих осіб.

Певний вид ХТ отримали небагато хворих, крім того, матеріал для дослідження збирався протягом досить тривалого часу, однак, ми намагалися у таких спостереженнях проаналізувати тривалість безрецидивного періоду.

Дані про проведення ХТ і тривалість безрецидивного періоду наведені у табл. 7.3.1.

Таблиця 7.3.1.

Схеми ХТ і тривалість безрецидивного періоду (міс) у деяких пацієнтів.

Пацієнт	ПТ	ХТ	Продовжений ріст МБ	Метастази МБ	Тривалість безрецидивного періоду, міс
С-я	+	Метотрексат ендолюмбально	—	+	12
Г-р	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	—
М-р	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	45
П-о	+	+	—	—	61
Д-к	+	+	—	—	144
Р-л	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	24
К-р	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	12
З-й	+	Метотрексат ендолюмбально	+	—	24
Л-о	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	24
К-в	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	21
К-к	+	Метотрексат ендолюмбально	—	—	—
Б-к	+	Ломустин	—	+	38
Б-ч	+	Темодал	—	—	—
Р-о	+	Темодал	—	+	24
У-в	+	НІТ-2000 (модифікована)	—	+	24
В-я	+	НІТ-2000	—	+	20

У пацієнтів, яким призначали ПТ і ХТ, медіана безрецидивного періоду становила 38 міс, у тих, кому проводили тільки ПТ — 36 міс ($p>0,05$). (рис. 7.3.1, 7.3.2). Суттєве покращення результатів виживання у хворих, що отримували ХТ, не відзначене.

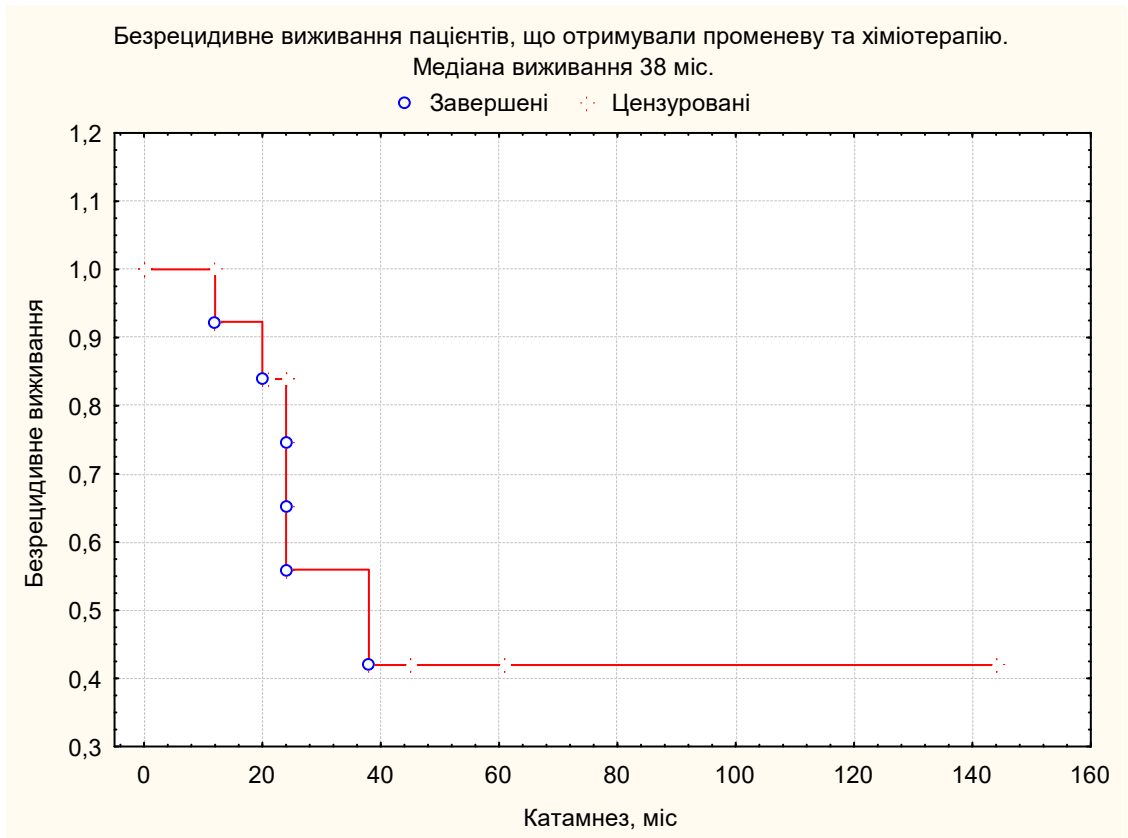


Рис. 7.3.1. Тривалість безрецидивного періоду (міс) у хворих при МБ, яким призначали ПТ і ХТ (за методом Каплан–Мейєра).

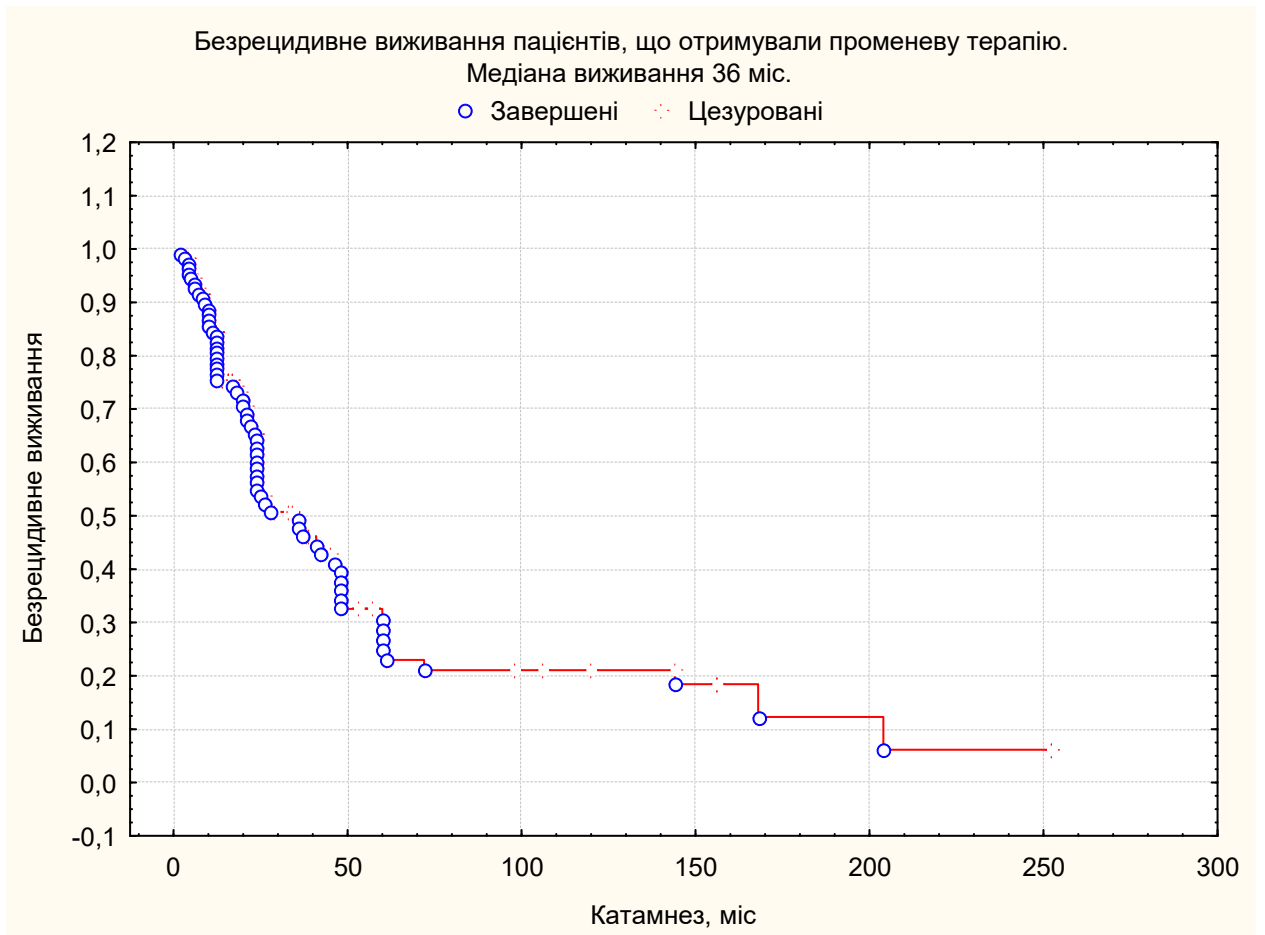


Рис. 7.3.2. Тривалість безрецидивного періоду (міс) у хворих при МБ, яким призначали тільки ПТ (за методом Каплан–Мейєра).

Відсутність єдиних схем хіміотерапевтичного лікування, різноманітність використаних протоколів та препаратів, невелика кількість спостережень, в яких використовувалась ХТ та неповні дані катамнезу у цих хворих, унеможливають оцінку ефективності хіміотерапевтичного лікування. Однак у пацієнтів з наявністю множинних метастазів, швидким прогресуванням захворювання рекомендовано обов'язкове застосування ХТ поряд з променевим лікуванням.

7.4. Повторні операції при МБ мозочку у дорослих.

З приводу продовженого росту пухлини проведено 42 повторних хірургічних втручання, з них 28 пацієнтам проведена одна повторна операція і 12 - м пацієнтам проведено дві повторні операції та 2-м пацієнтам проведено 3 повторні операції. Серед пацієнтів, яким проводилися повторні операції, обсяг видалення при першій операції був різним. Тотальне видалення за першої операції було проведено 71% (20) пацієнтів, яким надалі проводилися повторні операції, 18% (5) було проведено субтотальне видалення пухлини і 11% (3) - часткове. Післяопераційної летальності при повторних операціях не було. У переважної більшості спостережень (76%(32)) обсяг видалення пухлини при повторних операціях не відрізнявся від обсягу видалення при першій операції. У 19% (8) пацієнтів при повторній операції ступінь радикальності була нижче і тільки у 5% (2) пацієнтів повторна операція була проведена в більш радикальному обсязі, ніж первинна. Так, хворий Л-О, 41 рік, первинно оперований в 1991 році з приводу МБ лівої півкулі мозочку, оклюзійної гідроцефалії. Розмір новоутворення за даними АКТ 4x4см. Проведено видалення пухлини по перифокальній зоні (тотальне). Після виписки отримав курс КСПТ. Через рік, в 1992 р, за даними АКТ діагностовано продовжений ріст пухлини 3,5x3,5 см. Повторно проведено видалення пухлини по перифокальній зоні і курс КСПТ. Однак через 1,5 року знову виник продовжений ріст пухлини, за даними АКТ 4x4см. Проведено субтотальне видалення пухлини, ділянки новоутворення в нижніх відділах ІV шлуночка не видалялись. Рекомендована ПТ та ХТ, подальша доля хворого невідома. У хворої Т-б, 28 років, термін виникнення продовженого росту після тотального видалення МБ і КСПТ склав лише 8 місяців. У хворого К-о, 20 років, також відмічено швидке прогресування захворювання після тотального видалення МБ і ПТ. Проведено 2 оперативних втручання видалення пухлини по перифокальній зоні у 2006 та 2007 рр. з інтервалом у

14 місяців. Тоді, як у хворого З-й, 18 років, ремісія між першою і повторною операцією склала 17 років, між другою та третьою операцією - 3 роки, при кожному втручанні проведено видалення пухлини по перифокальній зоні з курсом КСПТ. У хворого А-о, 41 рік, після часткового видалення МБ хробака та медіальних відділів гемісфер з тампонадою ІV шлуночку інтервал між першим і повторним втручанням склав 4 роки. При повторній операції проведено субтотальне видалення пухлини. Термін ремісії склав 5 років. при 3-й операції проведено видалення пухлини по перифокальній зоні. Після кожного втручання хворому проводилась КСПТ. У хворі Л-о, 36 років, з МБ ІV шлуночку, що проростала у стовбур головного мозку, стадія Т3bM0, проведено субтотальне видалення пухлини та курс КСПТ. Явища продовженого росту з'явилися через 10 років. Повторно проведено субтотальне видалення пухлини та курс КСПТ. Але вже через рік після цього виявлено множинне метастазування по хребтовому каналу.

Тривалість безрецидивного періоду при повторних операціях у кожному випадку індивідуальна і обумовлена не тільки обсягом повторного оперативного втручання особливостями проведеної комбінованої терапії, а і біологічними властивостями пухлини, такими як швидкість проліферації, здатність до інвазії та міграції, чутливість до ПТ.

Лікувальна тактика при продовженому рості пухлини і метастазуванні відрізнялась. При наявності множинних метастазів хворим (14 спост.) був рекомендований курс променевої та хіміотерапії. При продовженому рості пухлини з наростанням вогнищевої неврологічної симптоматики та особливо виникненням гіпертензійно-гідроцефального синдрому у сполучені з поодинокими метастазами в межах ЦНС (3 спост.) спершу було проведено повторне видалення пухлини з послідуочим курсом променевої терапії та рекомендовано проведення ПХТ.

7.5. Багатофакторний аналіз за методом регресії Кокса

З метою визначення впливу клінічних і гістологічних чинників на тривалість безрецидивного періоду застосований багатофакторний аналіз, а саме модель пропорційних ризиків Кокса (табл. 7.5.1). Отримані дані в цілому збігаються з такими за аналізом по Каплан–Мейеру і підтверджують значення статі хворих, класифікації пухлини за Chang, радикальності втручання для прогнозування тривалості безрецидивного періоду.

Таблиця 7.5.1.

Багатофакторний аналіз за методом регресії Кокса.

Чинник	Коефіцієнт регресії (β)	Standart	t-value	Індекс ризику	Коефіцієнт Вальда	p
Гістологічний тип МБ	-0,042138	0,235044	-0,17928	0,958737	0,032141	0,857720
Вік хворого	0,014606	0,012443	1,1438	1,014796	1,137457	0,240882
Стать	-0,426188	0,278839	1,52844	0,652994	2,336121	0,126414
Радикальність операції	-0,233994	0,184816	1,26609	0,791366	1,602991	0,205489
Стадія за Chang	0,395295	0,302880	1,30512	1,484822	1,703341	0,191861

Слід відзначити, що вплив різних чинників на тривалість безрецидивного періоду достовірно не різнився ($p > 0,05$), однак найбільш виражений вплив мали стать пацієнта, стадія пухлини за Chang, радикальність хірургічного втручання.

Впровадження сучасних нейрохірургічних технологій і мікрохірургічного обладнання дозволило збільшити радикальність втручань,

зменшити до нуля післяопераційну летальність, у 1,5 разу збільшити тривалість безрецидивного періоду. Радикальність видалення МБ визначалася, перш за все, їх локалізацією та анатомо-топографічними особливостями. Тривалість безрецидивного періоду корелює з радикальністю операцій: найменшою вона була при частковому видаленні пухлини, найбільшою — при субтотальному. Метастази МБ на момент встановлення первинного діагнозу (стадія M_1 – M_3) виявлені у 3 (1,8%) пацієнтів; результати їх лікування були найгіршими, тривалість без рецидивного періоду від 4 до 8 міс.

При оцінці якості життя пацієнтів при МБ після операції за ШК найкращі результати відзначали при тотальному і субтотальному видаленні пухлини, хоча суттєвого погіршення стану хворих не відзначали у жодній групі. Найбільш тривале перебування хворих у стаціонарі спостерігали при частковому видаленні пухлини.

У пацієнтів при МБ стадії T_{3b} – T_4 медіана безрецидивного періоду значно менше, ніж при стадії T_1 – T_{3a} . Таким чином, менший розмір пухлини та відсутність проростання її у стовбур ГМ є сприятливими чинниками, що впливають на тривалість безрецидивного періоду. Тривалість безрецидивного періоду при МБ збільшується за більш раннього початку ПТ, призначення адекватних доз опромінення.

Повторно оперовані 28 (14,2%) пацієнтів з МБ, яким проведено 42 оперативних втручання. У більшості з них (76% спостережень) радикальність повторних втручань не відрізнявся від такої при первинній операції.

Радикальне видалення пухлини, удосконалення протоколів ад'ювантної терапії при МБ, адаптації їх до застосування у дорослих осіб, ранній початок терапії, більш широке використання ХТ, своєчасна діагностика продовженого росту — це шлях до підвищення ефективності лікування хворих при МБ, збільшення тривалості та якості їх життя.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Вивченню біології МБ у дорослих осіб, ефективності комбінованих методів їх лікування за останні 10 років присвячені численні публікації, основна увага дослідники приділяють вивчення природи цих пухлин, покращенню результатів лікування, з'ясуванню причин його неефективності [7, 11, 17, 20]. В Інституті нейрохірургії цілеспрямованих досліджень МБ у дорослих не проводили, хоча вивченню цієї патології у дітей присвячено багато робіт, починаючи з моменту організації установи [2, 3, 13, 14]. У нашому дослідженні проаналізовані результати лікування 197 хворих при МБ за останні 26 років, це найбільша серія спостережень у доступній світовій літературі, що лікувались у одній установі. За означений період часу якісно змінилися методи діагностики, удосконалені хірургічне обладнання, нейрохірургічна техніка, анестезіологічне та реанімаційне забезпечення, що потребує поетапного аналізу результатів лікування, розробку рекомендацій щодо подальшого удосконалення як хірургічного, так і ад'ювантних методів лікування. Співвідношення чоловіків і жінок склало 60,9% (n=120) і 39,1% (n=77) відповідно. Середній вік хворих склав $29,1 \pm 0,78$ років (від 16 до 65 років). Пацієнти розподілялись за віком згідно існуючим класифікаціям на момент госпіталізації. Найбільша частота захворюваності на МБ спостерігається у дорослих пацієнтів у віці від 17 до 35 років з поступовим зниженням частоти захворюваності відповідно до збільшенню віку пацієнтів. Виявлено два вікових піки частоти захворюваності — 20–25 та 30–35 років. У досліджуваній групі пацієнтів було 6 хворих (3%) віком 55–65 років.

Основними симптомами у пацієнтів були статокоординаторні порушення — 76,6% пацієнтів, головний біль — 91,3%, спонтанний горизонтальний ністагм — 100%. Порушення функції черепних нервів виявлено у 13 пацієнтів: у 1 — парез лицьового нерва (I–II ступінь за House–Brackmann, 1985 р.), у 3 — зниження слуху внаслідок ураження стовбура (III–IV ст. за класифікацією Gardner–Robertson, 1988 р.), у 7 — ураження

відвідного нерва, у 1 — порушення функції каудальної групи черепних нервів.

Ознаки внутрішньочерепної гіпертензії з явищами застійних дисків зорових нервів виявлено у 43,1% пацієнтів, зниження гостроти зору на тлі внутрішньочерепної гіпертензії — у 30,9% випадків.

Середня тривалість клінічних проявів пухлинного процесу до госпіталізації становила ($6,30 \pm 1,39$) міс (від 1 до 36 міс), але більшість хворих звертались по медичну допомогу у терміни до 3 міс від початку захворювання.

З приводу продовженого росту пухлини проведено 42 повторних хірургічних втручання, з них 28 пацієнтам проведена одна повторна операція, 12 пацієнтам проведено дві повторні операції та 2 пацієнтам проведено 3 повторні операції. У більшості з них (76%) об'єм видалення пухлини при повторних операціях не відрізнявся від такого при першій операції.

Вивчення морфологічних, молекулярних і вірусологічних характеристик МБ, удосконалення протоколів ПТ при МБ у дорослих, ранній початок терапії, більш широке використання ХТ, своєчасна діагностика продовженого росту — це шлях до підвищення ефективності лікування, збільшення тривалості та якості життя пацієнтів.

У нашому дослідженні велику увагу приділяли вивченню та аналізу не лише клінічних і хірургічних особливостей МБ, а й дослідженню їх патогенетичних особливостей у порівнянні з подібними пухлинами у дітей. В першу чергу, це стосується морфоструктурних особливостей цих новоутворень. Так, за даними гістологічного дослідження, у дітей і дорослих можна виділити кілька типів МБ: класичний, десмопластичний, анапластичний. Згідно з класифікацією пухлин ЦНС ВООЗ (2007) проведено ретроспективний аналіз гістологічних препаратів. Класичний варіант пухлини виявлено у 62,3% спостережень, десмопластичний — у 23,8%, анапластичний — у 13,9%. Випадків медулобластом з підвищеною

нодулярністю у дорослих пацієнтів не виявлено. Крім того, відзначали спрямованість диференціювання клітин пухлини: у астроцитарному, епендимарному, нейрональному напрямку або змішаний шлях диференціювання, незалежно від віку хворих. На сьогоднішній день більшість авторів приділяють увагу вивченню генетичних (мутації) порушень, пригнічення чи активації певних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів у МБ дітей і дорослих, що зумовило розробку молекулярно-генетичної класифікації цих пухлин [80, 84].

Проведені нами морфологічні дослідження будови більше 190 зразків медулобластом підтвердили, що медулобластоми дорослих подібні до медулобластом дітей. Дослідження експресії Ki-67-маркера проліферації клітин показало, що цей маркер експресується, як у дитячих, так і дорослих пухлинах, а саме є зразки пухлин, де експресія Ki-67 в пухлині висока (вище 20%) і є пухлини з низькою кількістю клітин, які мають Ki-67. Ki-67 є показником ступеня проліферації, то серед МБ дітей та дорослих є пухлини з високим темпом росту і навпаки з низьким темпом росту. Тобто, визначення частоти експресії Ki-67 не є віковою специфічною ознакою цих пухлин, а є ознакою ступеня проліферативної активності конкретної МБ, як дітей, так і дорослих пацієнтів. Таким чином, в клінічному плані важливіше знати в кожному конкретному випадку проліферативну активність пухлини, що можливо по визначенню Ki-67 протеїну в клітинах пухлин, незалежно від віку пацієнта.

В плані розуміння етіології та патогенезу МБ, особливостей клінічного перебігу у хворих різного віку важливим залишається пошук відмінностей структури пухлин у дітей і дорослих. Ультраструктурні дослідження виявили кількісні та якісні відмінності між МБ у дорослих і дітей. Результати морфометричних та електронно-мікроскопічних досліджень медулобластом у дорослих свідчать про наявність певних відмінностей у клітинах пухлин у дітей та дорослих. Так, площа ядра та цитоплазми у клітинах медулобластом у дорослих в 1,7 разу менша, ніж у пухлинах дітей. Зменшена також кількість

ядерець у ядрах та знижений нуклеолярний коефіцієнт у медулобластомах дорослих, що свідчить про вищий рівень диференціювання цих пухлин у порівнянні з медулобластомами дитячого віку.

Також виявлені певні відмінності у будові мітохондрій, довжині та ширині міжклітинних контактів клітин. Таким чином, для МБ дорослих менш характерні ультраструктурні прояви злоякісної трансформації, на відміну від таких у дітей; це цілком збігається з думкою більшості авторів про меншу агресивність новоутворень, рідше метастазування у дорослих [50, 80, 84].

Дані електронномікроскопічного дослідження МБ у хворих різного віку не лише пояснюють певні відмінності клінічних проявів, а й доповнюють наші уявлення про можливі причини виникнення МБ у дорослих, зокрема, внаслідок мутації стовбурових клітинах дорослих або зворотного диференціювання уже зрілих нервових клітин ГМ [77–79]. Отримані нами дані про особливості будови пухлин у дорослих осіб в певній мірі співпадають із сучасною генно-молекулярною класифікацією медулобластом. В той же час вони свідчать і про необхідність подальшого вивчення багатьох питань морфології, патогенезу та генетики медулобластом, вирішення яких дозволить диференціювати лікування кожного типу медулобластом з урахуванням вікових особливостей їх розвитку.

Узагальнюючи результати морфологічного дослідження тканини МБ дорослих і порівнюючи їх з даними літератури [50, 60], відзначаємо, що МБ у дорослих осіб, незважаючи на гістологічну подібність до таких у дітей, мають певні структурні відмінності, які визначаються за допомогою більш складних методів дослідження, зокрема, при електронній мікроскопії клітин МБ виявлені відмінності у будові мітохондрій, кількості ядерець, довжині та ширині міжклітинних контактів клітин, ядерно-цитоплазматичному відношенні.

На сьогоднішній день немає чітких гіпотез або пояснення, чому МБ, пов'язані з порушенням ембріогенезу мозочка, проявляються у зрілому віці,

коли формування структур ГМ давно завершене [6, 10, 11]. Перелік не вивчених питань щодо виникнення МБ у дорослих досить великий, це, насамперед, питання природи та характеру генетичних порушень окремих популяцій клітин ГМ, з яких розвиваються пухлини; механізми генетичних порушень; роль певних онко- і мутагенів чинників, зокрема, вірусів; механізми і шляхи продовженого росту та метастазування МБ тощо. Все це зумовило необхідність всебічного вивчення МБ у дорослих, аналізу результатів їх лікування.

За останні 10–15 років велика кількість публікацій присвячена вивченню СПК, які виявляють у різних пухлинах людини і тварин, включаючи новоутворення грудної залози, яєчників, шлунку, лімфоїдних органів, простати, ГМ [161–164]. З СПК пов'язують такі важливі питання онкогенезу як виникнення пухлин, їх метастазування, радіо- та хіміорезистентність тощо. Основна особливість СПК — здатність до розмноження, їх біологічні властивості та маркери нагадують ембріональні стовбурові клітини, з них формуються пухлинні вогнища [170, 172]. Появу у пухлинному вогнищі СПК з ознаками нормальних стовбурових клітин сучасні дослідники пояснюють кількома механізмами. Наприклад, згідно гіпотези Kostowski T. і співавторів (2009) [168], під впливом мутаційних чинників можливі три шляхи розвитку СПК: 1) СПК виникають з нормальних стовбурових клітин ГМ під впливом певних мутагенів, це спричиняє їх неконтрольовану проліферацію та виникнення злоякісної пухлини; 2) виникнення пухлин зумовлене міграцією у вже існуюче новоутворення нормальних стовбурових клітин, які згодом трансформуються у пухлинні клітини, тобто такі, що здатні спричинити виникнення нових пухлин; 3) виникнення СПК пов'язане з значним мутагенним впливом різних чинників, які спричиняють дедиференціювання зрілих нервових клітин до рівня стовбурових клітин з ознаками нерегульованої проліферації. Третій шлях виникнення СПК певною мірою відповідає класичній теорії онкогенезу, який пов'язують з впливом канцерогенів на нормальні клітини з їх подальшим дедиференціюванням до

попередніх стадій розвитку [170]. Виходячи з гіпотези про шляхи розвитку і роль СПК у пухлинах ГМ, можна пояснити виникнення МБ у дорослих осіб перетворенням нормальних стовбурових клітин на СПК при збереженні ознак, характерних для МБ дитячого віку, які виникають внаслідок порушень в ембріональному періоді [171, 172, 174].

СПК у пухлині визначають за відповідними маркерами, характерними для новоутворень певного гістологічного типу, а саме для внутрішньомозкових пухлин, раку простати та грудної залози; таким маркером є молекула променіну — стадієспецифічного ембріонального протеїну, який виявляють за допомогою моноклональних антитіл CD-133 [170, 171].

За результатами нашого дослідження, у більш ніж 60% МБ у дорослих виявлені СПК. При порівняльному дослідженні зразків ГБ і МБ у дітей і дорослих встановлено, що у МБ дорослих осіб рідше, ніж у інших пухлинах, виявляються СПК. У найбільш злоякісних пухлинах (ГБ у дорослих і МБ у дітей) часто виявляли СПК, що відповідає даним інших авторів [164,167,168]. В той же час, у нашій роботі, незважаючи на 2–3-кратний повтор ІГХ дослідження зразків МБ, СПК виявлені лише у 68,2% МБ у дорослих пацієнтів, що підтверджує думку про те, що СПК є характерною ознакою МБ дорослих, СПК виникають внаслідок мутацій з нормальних стовбурових клітин ГМ дорослих осіб і можуть спричинити виникнення новоутворень зазначеного типу у дорослих. У той же час, у частині МБ дорослих осіб СПК не виявлені. Таким чином, МБ у дорослих можна розподілити на 2 групи: 1) пухлини з СПК (CD-133⁺), 2) без СПК (CD-133⁻). Ми проаналізували вік і стать хворих у цих групах; встановлено, що вік достовірно не пов'язаний з наявністю в тканині новоутворення СПК, В той час встановлено, що у пухлинах чоловіків СПК зустрічаються частіше ніж у пухлинах жінок. Аналізуючи розмір пухлини було встановлено для пухлин з наявністю СПК характерний великий розмір та поширення пухлини, що співпадає з результатами досліджень вмісту СПК у гліобластомах [179,180]. В той же

час, наявність СПК у тканині пухлини не залежала від гістологічного варіанту.

Отже, на наявність у тканині пухлини СПК суттєво не впливають вік хворого, гістологічний тип новоутворення; СПК частіше виявляють в осіб чоловічої статі з пухлинами великого розміру. При аналізі тривалості інтервалу між першою та повторною операцією залежно від наявності СПК у медулобластомах встановлено, що в групі пухлин, які містили СПК, цей період був коротший і становив $(23,44 \pm 5,61)$ міс, тоді як у групі пухлин без СПК він був майже вдвічі довший — $(45,25 \pm 11,65)$ міс ($p < 0,05$). Отже, за наявності в пухлині СПК відбувається прискорення продовженого росту пухлин, що указує на патогенетичну роль СПК у прогресуванні рецидиву медулобластом.

Таким чином, наявність СПК в тканині МБ сприяє більш швидкому виникненню рецидиву, скороченню безрецидивного періоду. Це відповідає даним літератури [181] про те, що наявність СПК у МБ пов'язана з поганим прогнозом. Визначені особливості МБ, які містять СПК, дозволяють стверджувати, що наявність СПК у тканині пухлини є несприятливим фактором, для таких новоутворень характерна радіо- і хіміорезистентність [165, 166, 180].

На нашу думку, відсутність СПК у тканині МБ варто сприймати умовно, оскільки маркерні молекули CD-133 можуть не виявлятися через різні причини. Тому в роботах останніх років поряд з антитілами до молекули CD-133 (променіну) використовують інші антитіла, до інших стовбурових ембріональних маркерів, зокрема, нестину або CD-15, CD-90 молекул [182].

Таким чином, для МБ у дорослих і дітей характерна наявність СПК, які, можливо, мають різне походження. У дітей СПК виникають з ембріональних стовбурових і прогеніторних клітин зернистого шару мозочка [183]. У дорослих СПК утворюються шляхом мутації нормальних стовбурових клітин або дедиференціації нервових клітин мозочка у напрямку стовбурових клітин. Більш вірогідним є варіант виникнення МБ у дорослих внаслідок

мутацій нормальних стовбурових нервових клітин у мозочку: це спричиняє виникнення пухлин і збереження в них СПК. Підтвердження наявності у тканині МБ стовбурових клітин є отримані нами дані про наявність у них гемопоетичних стовбурових клітин CD-34⁺. У МБ дітей і дорослих частка гемопоетичних CD-34 клітин досить велика. З цими клітинами пов'язують неангіогенез у злоякісних пухлинах, у якому беруть участь як CD-34 клітини, так і СПК [167, 170]. Це ще один доказ на користь того, що у формуванні МБ беруть участь різні типи стовбурових клітин, а деякі з них трансформуються у СПК.

Можна допустити, що нормальні нервові стовбурові клітини головного мозку дорослих осіб мають менший проліферативний потенціал, ніж ембріональні нервові стовбурові клітини, а СПК які виникли із цих нормальних стовбурових клітин дорослих індукують МБ у дорослих осіб, що мають більш доброякісний перебіг, ніж МБ у дітей і можуть відрізнитись між собою також певними біологічними ознаками, такими як експресія рецепторів росту та проліферації, молекул адгезії та іншими [167].

Дослідження експресії певних молекулярних маркерів клітинами МБ, показало що пухлинах дорослих пацієнтів містилося достовірно менше стовбурових гемопоетичних клітин, ніж у пухлинах дитячого віку, Ці клітини можуть посилювати ріст судин у пухлині. Високий вміст CD-34⁺-клітин у пухлинах дітей можна пояснити швидшим темпом росту медулобластом і, навпаки, низький рівень у пухлині стовбурових гемопоетичних клітин свідчить про повільніший розвиток цих пухлин. Вміст клітин, які експресують проліферативний рецептор інтерлейкін-2 (CD-25) та активаційну молекулу CD-38, у пухлинах дорослих був меншим, ніж у пухлинах дітей.

У пухлинах дорослих виявлено меншу кількість клітин, які експресують нейрональну молекулу адгезії NCAM (CD-56) та Fas-рецептор апоптозу (CD-95). За кількістю лейкоцитів та Т-лімфоцитів (CD-3 і CD-45) та

клітин, які містили протеїн гену Р-53, пухлини дорослих та дітей не відрізнялися, за винятком молодшої дитячої групи.

Отримані дані свідчать про наявність клітинно-молекулярних відмінностей між медулобластомами у дорослих та дітей і можливість використання молекулярних маркерів для характеристики проліферативних та адгезивно-міграційних властивостей пухлин.

Ці дані підтверджують положення про вікові відмінності МБ у дітей і дорослих, різний перебіг захворювання у дорослих пацієнтів. Отже, проведеними дослідженнями встановлено, що МБ у дорослих осіб притаманні не лише клінічні особливості, а й певні відмінності експресії молекулярних маркерів клітинами пухлин порівняно з МБ у дітей.

На сьогоднішній день існує велика кількість чинників, які визивають онкогенні мутації клітин, які призводять до розвитку новоутворень, серед яких на першому місці – це канцерогени та збудники інфекцій. Існує думка, що до 17% всіх пухлин людини викликаються вірусами, які отримали назву онкогенних вірусів, а також значна кількість вірусів, які відносять до онкомодуляторів [194,195,210]. До першої групи вірусів відносять віруси папіломи, гепатиту С, вірусів герпеса 4 та 8 типів. До другого типу вірусів відносять віруси поліоми, лімфотропні віруси та ЦМВ. Відносно ЦМВ за 5-7 останніх років появилася досить велика кількість публікацій та спірних та суперечних положень. Запропоновані 3 різні гіпотези [195,197,212], якими пояснюють персистенцію вірусів у тканині пухлин. Згідно першої - ЦМВ є онкогенним та онкомодуючим збудником багатьох злоякісних пухлин, особливо внутрішньомозкових злоякісних новоутворень, таких як гліобластоми та медулобластоми. В той же час інша частина дослідників (друга гіпотеза) переконана, що ЦМВ не є причиною розвитку злоякісних пухлин, в т.ч. головного мозку, а факт знаходження у тканині пухлин вірусу є результат випадкового вірусного забруднення пухлин внаслідок запальних реакцій та зниження імунітету при злоякісних новоутвореннях [198,199]. На кінець, третя гіпотеза указує, що ЦМВ не відноситься до істинних

онкогенних вірусів, а є онкомодулятором, який лише підсилює швидкість пухлинного росту та сприяє трансформації у більш злоякісні пухлини.[290]. Кожна вище описана гіпотеза аргументується великою кількістю відповідних факторів, але перевагу мають дослідники, які не лише на клінічному матеріалі, але і в експерименті на тваринах та культурі клітин *in vitro* доказали онкоіндукуючу та онкомодулюючу здатність ЦМВ. Проведений у 2011 році Міжнародний спільний симпозіум нейрохірургів та вірусологів у Нью-Йорку прийняв консенсусне рішення, в якому ЦМВ визнано однією із причин розвитку злоякісних пухлин мозку та рекомендував використання противірусної терапії в комбінованому лікуванні гліобластом [225]. Питання про наявність інших вірусів в пухлинах мозку та їх зв'язок із ступенем анаплазії новоутворень вивчено поки що недостатньо.

З урахуванням даних літератури, одним з завдань нашого дослідження було визначення герпесвірусів у тканині МБ у дорослих пацієнтів, а також у хворих з іншими пухлинами ГМ. Для дослідження використовували біопсійний матеріал, отриманий під час нейрохірургічних втручань, і гістологічні зрізи фіксованої у формаліні тканини пухлин. У зразках тканини пухлин вивчали наявність герпесвірусів 1-2, 4 (Епштейна–Барр), 5 (ЦМВ), 7 і 8 типів, які відносять до політропних вірусів, що можуть спричиняти різні неврологічні захворювання. Наявність у тканині пухлин цих вірусів визначали за допомогою ПЛР з використанням комерційних наборів (виявлення вірусної ДНК є беззаперечним свідченням його персистенції у пухлинному вогнищі). У тканині як «свіжих», так і фіксованих пухлин найчастіше виявляли ЦМВ і вірус Епштейна–Барр (герпесвіруси 4 і 5 типів), решту герпесвірусів виявляли рідко — у 1–6% спостережень. Результати використання ПЛР з електрофоретичною реєстрацією та ПЛР у реальному часі певною мірою пояснюють суперечливі дані літератури щодо частоти виявлення ЦМВ у тканині пухлин.

ПЛР з електрофоретичною реєстрацією — відносно стара, не дуже чутлива методика, при її використанні ЦМВ у тканині пухлин виявляли у

1,5–2 разу рідше, ніж при застосуванні сучасної методики ПЛР у реальному часі. Результати ПЛР залежать від використання праймерів гену ЦМВ. Так, за даними літератури, за допомогою праймера до ЕА гену ЦМВ, ДНК вірусу виявляють у 84–90% зразків МБ і 60% ГБ [214, 215, 231]. Отже, результати визначення наявності вірусів у тканині пухлин залежать, в першу чергу, від методу дослідження та самого вірусу, а також правильно підібраних праймерів. Тобто, у більшості МБ дітей і дорослих, а також гліомах наявний ЦМВ, тоді як герпесвіруси 1, 7 і 8 типів ми виявляли дуже рідко, що узгоджується з численними даними літератури [183,186,187].

В той же час в нашій роботі встановлено, що у медулобластомах дорослих виявляється у великому відсотку ВЕБ, причому в більшості випадків в пухлині виявляються ЦМВ та ВЕБ одночасно . Якщо причини та механізми ЦМВ контамінації пухлин в літературі досить широко обговорюється, то ВЕБ приділяється значно менше уваги.

Вважають, що ЦМВ здатний спричиняти ріст МБ і ГБ, тоді як ВЕБ зумовлює виникнення пухлин лімфоїдної тканини та аденокарциному гортані, з новоутвореннями ГМ його поки що не пов'язують [192,197,198]. Не виключено, що більш широке дослідження вірусної персистенції у пухлинах, різних за гістоструктурою і злоякісністю, зокрема, новоутвореннях ГМ, може дати відповідь на питання про роль цих вірусів у виникненні пухлин ЦНС і впливі на ступінь їх анаплазії.

Шляхи потрапляння вірусів у пухлинне вогнище вивчені недостатньо, хоча в літературі зазначені як мінімум 3 шляхи потрапляння ЦМВ у тканину пухлини [194, 230]: внаслідок латентної активації ЦМВ — за наявності віремії вірус розноситься по організму, затримується у вогнищах хронічного запалення, де він може спричинити мутацію та онкотрансформацію нормальних клітин у пухлинні. Багатьма дослідниками показано, що ЦМВ може зберігатися у нормальних стовбурових клітинах, зокрема, гематогенних, приховано розноситься ними по організму і спричиняти виникнення пухлин [216, 218] Нарешті, у кількох дослідженнях показано, що

моноцити та макрофаги крові є резервуаром і джерелом вірусу в організмі, за допомогою цих клітин ЦМВ потрапляє у пухлину, де і зберігається протягом тривалого часу [215, 218]. Для вірусу Епштейна–Барр також характерне поширення як за допомогою В лімфоцитів, так і моноцитів крові.

Таким чином, для МБ дорослих осіб характерна контамінація ЦМВ і вірусом Епштейна–Барр, які виявляють у 70% спостережень, що дозволяє пов'язувати їх ініціацію та стимуляцію росту саме з цими вірусами. З урахуванням наявності СПК в МБ дорослих, можна висловити наступне припущення: незмінені (нормальні) НСК і гемопоетичні стовбурові клітини інфікуються вірусами і трансформуються у СПК, з яких розвиваються як пухлини, так і внутрішньопухлинні судини [216, 218, 290].

Відкритим залишається питання про місце і час вірусної онкотрансформації стовбурових або інших клітин. Ймовірно, це відбувається у ембріональному періоду або ранньому дитинстві під час формування структур ГМ; МБ у дітей формуються з стовбурових клітин зернистого шару мозочка. У дорослих осіб віруси протягом тривалого часу впливають на незмінені НСК, що спричиняє їх онкогенну мутацію і згодом проявляється виникненням пухлини, у якій наявні СПК [230, 232]. У яких відділах (структурах) ГМ відбуваються ці процеси і їх причини невідомі. Існує припущення, що НСК мігрують по всьому ГМ і можуть локалізуватися у будь-якій його ділянці, що й спричиняє виникнення МБ або ГБ, або інших злоякісних пухлин [290–292].

Варто відзначити, що ЦМВ виявляють і в інших типах пухлин людини, тобто механізм інфікування цим вірусом новоутворень різних гістотипів можна пов'язати з прихованою активацією ЦМВ-інфекції та подальшим потраплянням вірусу у пухлинне вогнище. Однією з причин латентної активації ЦМВ у людини при злоякісних новоутвореннях може бути порушення клітинної ланки імунітету.

Для поглибленого аналізу контамінації герпесвірусами 4 і 5 типів МБ у дорослих були розподілені на 4 групи: 1) пухлини, у яких виявляли ЦМВ;

2) пухлини, у яких виявляли вірус Епштейна–Барр; 3) пухлини, у яких одночасно виявляли ЦМВ і вірус Епштейна–Барр; 4) пухлини, у яких віруси не виявляли. У 45% спостережень у тканині пухлини виявляли одночасно два герпесвіруси, у 11,9% — один. Достовірність результатів визначити досить складно. Частота вірусної контамінації зростала відповідно до віку хворих. Виявлені відмінності вірусної контамінації залежно від розмірів пухлини (за даними КТ і МРТ). Герпесвіруси частіше виявляли у більших за розміром пухлинах, проте, різниця є статистично незначущою. За нашими даними, вірусна персистенція була більш характерна для десмопластичного варіанту МБ. У десмопластичних МБ два герпесвіруси одночасно виявляли у 4 рази частіше, ніж при класичному варіанті.

При вивченні термінів безрецидивного періоду у хворих з медулобластомами залежно від вірусної контамінації встановлено, що тривалість безрецидивного періоду була вдвічі меншою за наявності у пухлинах двох вірусів ($21,88 \pm 7,38$ міс.) або ЦМВ ($23,38 \pm 3,33$ міс.) порівняно з пухлинами, які не містили вірусів ($44,00 \pm 8,64$ міс.).

Таким чином, розвиток МБ у дорослих осіб пов'язаний з персистенцією вірусів, зокрема, ЦМВ та ВЕБ, які, можливо, спричиняють онкотрансформацію клітин мозочка, особливо НСК дорослих осіб, що й зумовлює виникнення у них МБ. Це відповідає одній з гіпотез про індуктивну роль вірусів в онкогенезі різного типу пухлин, зокрема, грудної залози, простати, шлунку та ін. [190, 191, 193, 194]. Відкритим залишається питання про те, який з 2 зазначених вірусів є основним, а який — допоміжним або випадковим. Відповідь про роль цих вірусів у виникненні МБ у дорослих можна отримати лише в експерименті на тваринах або в культурі нервових клітин *in vitro*, його результати матимуть важливе практичне значення, а саме — використання противірусної терапії для профілактики виникнення та, особливо, при лікуванні злоякісних пухлин. В цьому практичному напрямку ведуться в останній час дуже широкі дослідження як по пошуку можливостей використання противірусних

моноклональних антитіл, так і виростання класичної противірусної терапії при комбінованому хірургічному та променевому лікуванні медуллобластом та інших пухлин [213-215].

Незважаючи на відсутність серед дослідників єдності поглядів щодо ролі ЦМВ у патогенезі пухлин та можливості практичного використання цього феномену, інтенсивно вивчається можливість використання цього явища у клініці для удосконалення лікування. За даними літератури до 92%% первинних медуллобластом мають ЦМВ антигени і ДНК вірусу, причому вірус визначався як в первинних пухлинах, так і в клітинних лініях медуллобластом *in vitro* [212]. Експресія ЦМВ протеїнів відмічена в клітинних лініях і ксенотрансплантатах пухлин, де виявлялися як ранні, так і пізні антигени ЦМВ. Але повноцінний вірус, який можна культивувати в культурі клітин методами класичної вірусології, не вдалося виділити ні з первинних пухлин, ні з ксенотрансплантатів [213]. Ці спостереження вказують на те, що ЦМВ в пухлинних клітинах відрізняється від ЦМВ при активній класичній інфекції, при якій відбувається лізис інфікованих клітин. У пухлинних клітинах вірус не викликає загибель інфікованих клітин, а навпаки наявність вірусних антигенів може посилювати онкогенність пухлини, робити онкомодуляцію, погіршувати клінічний перебіг захворювання [213]. Раніше було показано, що ЦМВ індукує синтез в пухлині цитооксигеназы-2 (COX-2) і продукцію простагландину E-2 (PGE-2) [224]. У деяких зразках медуллобластом і гліобластом був виявлений високий рівень COX-2, що поєднувалося з поганим клінічним прогнозом [224,225]. Застосування інгібітору COX-2 целекоксиба у поєднанні з велорином (цимевеном) призводило до гальмування зростання медуллобластом на 40-50%% в експерименті на мишах, а зміст ЦМВ протеїнів в цьому випадку редукувався на 80%% в тканині ксенотрансплантатів [214]. Не виключено, що і в клініці поєднане застосування антивірусної терапії і інгібіторів COX-2 дасть видимий позитивний результат при лікуванні пухлин, що містять ЦМВ. Вже

зроблені перші спроби лікування хворих з гліомами такою терапією в поєднанні з променевою та хіміотерапією. Спостереження за цими хворими зараз триває і дані про результати досліджень поки відсутні [218,220]. У той же час пропозиції щодо можливого застосування протівірусної терапії при комбінованому лікуванні медулобластом і гліобластом визнається не усіма дослідниками, і як вважають Ranganathan, P. A. et al. [211], такі рекомендації є передчасними. На данному етапі вивчення цієї проблеми можна говорити лише про наявність герпесвірусної контамінації медулобластом. Протеїни цього вірусу і сам вірус, що знаходиться в латентній формі, здатні чинити онкомодулюючу дію на вже існуючий пухлинний процес, на механізми, відповідальні за проліферацію, апоптоз, міграцію. Пухлині, що містять ЦМВ, рекомендується називати "ЦМВ асоційованими" [211]. Можливість практичного використання цієї асоціації для прогнозу або лікування злоякісних пухлин головного мозку залишається відкритою і не вивчена ще в належній мірі.

Таким чином, у МБ дорослих осіб виявляють стовбурові, гемопоетичні клітини і, як мінімум, два герпесвіруси — 4 і 5 типів, які можуть брати участь як в індукції, так і розвитку новоутворень, це частково пояснює причини виникнення так званих ембріональних пухлин у дорослих. На наш погляд, отримані результати мають не лише теоретичне (поглиблення уявлень про природу і механізм виникнення пухлин), а й неабияке практичне значення (розширення можливостей та збільшення ефективності комбінованого лікування).

Підсумовуючи приведені вище результати досліджень, можна констатувати наступне, що в етіопатогенезі медулобластом важливу роль поряд з генетичними порушеннями процесів проліферації, апоптоза та механізмів внутрішньоклітинної передачі сигналу, відіграють СПК, які містяться у більшості медулобластом, з якими пов'язують як індукцію пухлинного процесу так і швидкість проліферації клітин, здатність до інфільтративного росту та міграції та радіорезистентність. Стовбурові

пухлинні клітини СПК медулобластом дорослих можуть осіб утворюються із стовбурових нервових клітин головного мозку дорослих осіб, а також шляхом зворотного диференціювання із нервових клітин при дії канцерогенів, онковірусів та генетичних мутацій. При дослідженні значення герпесвірусів в патогенезі медулобластом було встановлено, що у 70% зразках цих пухлин виявляються віруси 4 та 5 типів (ВЕБ та ЦМВ), які згідно даних літератури можуть бути як етіологічним чинником, так і стимулятором швидкого зростання пухлин. Встановлено, що при персистенції ЦМВ та ВЕБ в тканині медулобластом відмічається більш короткий період між першою та повторною операціями, що вказує на стимуляцію пухлинного росту.

Поряд наявності в медулобластомах дорослих осіб СПК визначаються і інші стовбурові клітини — гемопоетичні CD-34⁺ клітини, які приймають участь в онкоангіогенезі та стимуляції росту новоутворень. Важливим чинником патогенезу медулобластом дорослих осіб є експресія на поверхні цих клітин рецепторів росту інтерлейкіну 2, (CD-25⁺) адгезивної молекули NCAM та Fas рецептора готовності до апоптозу (CD-95), що характеризує проліферативний, інфільтративно-міграційний та апоптичний потенціал медулобластом дорослих.

У комбінованому лікуванні при МБ хірургічне втручання, спрямоване на видалення максимального можливого об'єму пухлини, відіграє основну роль, забезпечує необхідний резерв часу для проведення подальшого лікування. Проведено 197 первинних і 42 повторних хірургічних втручання, спрямованих на видалення медулобластоми у дорослих пацієнтів. У 18 пацієнтів видалення пухлини доповнено односторонньою вентрикулоцистерностомією. Об'єм видалення пухлини визначався її анатомо-топографічними особливостями, такими як вростання пухлини в стовбур мозку, поширення пухлини крізь отвір Люшка в мосто-мозочковий кут з обростанням функціонально та життєво-важливих судин і нервів. У деяких випадках об'єм видалення був обмежений через рясно васкуляризовану паренхіму пухлини і значну крововтрату. Кістозний

компонент, який міг полегшити видалення пухлини при медулобластомах мозочка у дорослих, траплявся рідко — лише в 3 спостереженнях. Пухлина видалена тотально (по перифокальній зоні росту) у 122 (62%) пацієнтів, субтотально — у 30 (15,2%), частково — у 45 (22,8%).

Використання сучасної мікрохірургічної техніки є обов'язковим у хірургічному лікуванні хворих з медулобластомами і забезпечує хороші результати, навіть при видаленні пухлин в ділянці IV шлуночка з поширенням на стовбур головного мозку, в ділянці водопроводу, мостомозочкового кута. Використання сучасних нейрохірургічних технологій та анестезіологічного забезпечення (операційний мікроскоп, мікрохірургічний інструментарій та мікрокоагуляція, ультразвукова аспірація паренхіми пухлини) дало змогу створити умови для контрольованого видалення пухлинної тканини, полегшити гемостаз під час видалення пухлини, зменшити травматизацію оточуючих мозкових структур, зберегти функціонально важливі судини та нерви в ділянці задньої черепної ямки, підвищити радикальність хірургічного видалення медулобластом. Це сприяло значному покращенню результатів лікування та відсутності післяопераційної летальності. Удосконалення хірургічних методів видалення пухлини — один з чинників не лише поліпшення найближчих післяопераційних результатів лікування, а й збільшення тривалості безрецидивного періоду

Застосування сучасних мікрохірургічних технологій та анестезіологічного забезпечення дало змогу за останні 13 років у 88,4% спостережень медулобластом дорослих здійснити тотальне чи субтотальне видалення за відсутності післяопераційної летальності. Радикальне видалення пухлини дає змогу швидко відновити ліквороциркуляцію, поліпшити якість життя хворих, що створює умови для швидкого початку ад'ювантної терапії та збільшує тривалість безрецидивного періоду. За період спостереження зросла майстерність хірургів, впроваджені сучасні нейрохірургічні технології, зокрема, УЗА, мікрохірургічне обладнання;

сучасне анестезіологічне забезпечення дозволило збільшити радикальність нейрохірургічних операцій, зменшити післяопераційну летальність до нуля, у 1,5 разу збільшити тривалість безрецидивного періоду, що збігається з даними провідних клінік Європи та світу [8, 77, 78]. Радикальність хірургічного втручання при МБ визначалася, перш за все, їх локалізацією та анатомо-топографічними особливостями. Об'єм видалення пухлини був обмежений проростанням стовбурових відділів ГМ. Питання радикальності оперативних втручань при МБ неоднозначне, воно пов'язане як з якістю життя хворих, так і тривалістю безрецидивного періоду [64–66]. Наш досвід і результати дослідження свідчать, що намагання виконати максимально можливе радикальне втручання не завжди виправдане, оскільки під час операції можливі ускладнення з високим ризиком виникнення/поглиблення неврологічного дефіциту, що може затримувати ранній початок ПТ.

Таким чином, при використанні сучасного нейрохірургічного обладнання та анестезіологічного забезпечення можливе виконання операцій без ризику виникнення тяжких ускладнень, які спричиняють летальність і тяжку інвалідизацію пацієнтів в ранньому післяопераційному періоді. В той же час, проблема радикальності оперативних втручань остаточно не вирішена, це пов'язано, в першу чергу, з анатомо-топографічними особливостями та інвазивним ростом пухлини. Тривалість безрецидивного періоду при МБ корелює з радикальністю операцій: при частковому видаленні пухлини вона найменша, при субтотальному або тотальному — найбільша, що відповідає даним більшості дослідників [6, 9, 10, 64]. Отримані нами результати збігаються з відомими даними щодо лікування хворих при злоякісних гліомах [289]. Цікавим є той факт, що тривалість безрецидивного періоду була найдовшою саме при субтотальному видаленні пухлини: пояснити це досить складно, проте, ймовірніше за все, це пов'язане з меншою операційною травмою та кращим перебігом післяопераційного періоду.

При оцінці якості життя хворих при МБ за ШК після операції найкращі результати відзначали при тотальному і субтотальному видаленні пухлини. Найдовше лікували у стаціонарі хворих після часткового видалення МБ, яке було обумовлено іфільтративним проростанням дна IV шлуночку, поширенням пухлини в ділянку водопроводу мозку та мосто-мозочковий кут. Крім того, пухлину видаляли частково при виникненні інтраопераційних ускладнень, зумовлених крововтратою, набряком ГМ, нестабільною гемодинамікою пацієнта.

У пацієнтів з медулобластомами стадій T_{3b} – T_4 медіана безрецидивного періоду значно нижча, ніж при стадії T_1 – T_{3a} . Таким чином, менший розмір пухлини, відсутність проростання у стовбур ГМ є сприятливими факторами, що впливають на тривалість безрецидивного періоду. Метастазування МБ (стадія M_1 – M_3) на момент встановлення первинного діагнозу виявлені у 3 (1,5%) пацієнтів: результати їх лікування були найгіршими, тривалість безрецидивного періоду — від 4 до 8 міс. Питання ранньої діагностики та лікування хворих при первинних МБ з мікрометастазами досить складне, важливу роль відіграють можливості нейровізуалізуючих, цитологічних і ПГХ методів дослідження

ПТ проведена у 193 (98%) пацієнтів за стандартною схемою краніоспінального опромінення. В той же час, опромінення здійснене на різному обладнанні, його розпочинали у різні строки після операції, що впливало на ефективність ПТ та ускладнювало аналіз ефективності лікування. Встановлено, що тривалість безрецидивного періоду у пацієнтів з медулобластомами збільшується при більш ранньому початку променевої терапії та її проведенні в адекватній дозі.

Протягом усього періоду спостереження 16 пацієнтів отримали повний або частковий цикл хіміотерапії. В групі пацієнтів, які отримували хіміотерапію, медіана безрецидивного виживання становила 38 місяців, у групі пацієнтів, котрі отримували лише променево терапію — 36 місяців.

Різниця в термінах безрецидивного виживання становила 2 місяці і була статистично незначущою. Хіміотерапію проведено у невеликої кількості хворих з медулобластомами за різними схемами. Суттєвого поліпшення результатів виживання у цій групі хворих не відзначено.

У нашій роботі проаналізовані результати повторних операцій у хворих при МБ, детально вивчений вплив ПТ на тканину пухлин (на матеріалі повторного втручання). Порівняльне патоморфологічне вивчення тканини повторно видалених медулобластом у співставленні з гістоструктурою первинно видалених пухлин у дорослих пацієнтів, які отримували після першої операції променеви терапію, показало широкий спектр клітинно-тканинних змін. Серед яких найбільш важливими є зниження мітотичної активності клітин, що демонструє цитостатичний ефект лікування у 30% випадків та розвиток цитодеструктивних змін у пухлині з утворенням великих вогнищ геморагічного і колікваційного некрозу. У тканині медулобластом дорослих після проведення променевої терапії може виникати також субтотальна геморагічна імбібіція її паренхіми і множинні осередки старого геморагічного некрозу поряд з поширеними «свіжими» крововиливами, місцями з утворенням «кров'яних озер», що відображує ураження судинного компоненту.

За результатами гістологічного аналізу зразків пухлин, видалених під час першої або повторної операцій, зміни, виявлені у їх тканині, залежали не лише від дози і часу проведення ПТ, а й від біологічних властивостей новоутворення. Поряд з проявами позитивного ефекту променевої терапії на медулобластоми є група спостережень (22,5%), в яких після променевої терапії виявлено підвищення клітинної щільності в паренхімі пухлин з наростанням мітотичної активності, що може свідчити про активацію їх проліферативного потенціалу в динаміці продовженого росту та про резистентність до опромінення .

Це дозволило виділити «малочутливі» (резистентні) до опромінення пухлини, на які не діє ПТ в стандартних дозах. Для таких пухлин характерне

збільшення агресивності та ступеня анаплазії після курсу ПТ або ХТ, що пов'язують з селекцією клонів клітин пухлини, які швидше проліферують [179, 180].

У тканині пухлин, чутливих до опромінення, виявлені різноманітні зміни будови, вогнища геморагії, некрозу, за якими усі спостереження розподілені на 3 варіанти патоморфозу [294]: 1) переважання цитостатичних змін; 2) переважання цитодеструктивних змін; 3) поєднання цитостатичних і цитодеструктивних змін, що свідчило про високу ефективність ПТ. Найменший вплив ПТ характеризувався цитостатичними змінами у тканині пухлини (зменшення мітотичного індексу, нечисленні крововиливи та вогнища некрозу). Цитодеструктивний вплив ПТ характеризувався наявністю у тканині пухлини великої кількості загиблих клітин, множинних вогнищ геморагії та некрозу. За поєданого варіанту в одних ділянках пухлини відзначали цитостатичні зміни, у інших — цитодеструктивні. Вивчення патоморфозу у МБ після ПТ дозволило встановити, що ці пухлини не однаковою мірою чутливі до опромінення, умовно їх можна розподілити на 3 групи: 1) резистентні; 2) малочутливі; 3) чутливі. ПТ у МБ дорослих осіб може спричиняти цитостатичний або цитодеструктивний ефект, або обидва одночасно, це залежить, як від дози опромінення, так і біологічних властивостей пухлин.

Відкритим залишається питання про можливість визначення чутливості МБ до опромінення на етапі першої операції. Результати вивчення вмісту СПК і рівня експресії Ki-67, визначення мітотичного та апоптотичного індексів дає уявлення про ступінь проліферативної активності клітин пухлинного вогнища, що дозволяє рекомендувати їх для визначення чутливості МБ до опромінення.

Проаналізовано тривалість періоду між першою та повторною операціями залежно від ознак лікувального патоморфозу: тривалість безрецидивного періоду достовірно більша за наявності у тканині пухлини одночасно цитостатичних і цитодеструктивних змін. Тривалість життя

дорослих хворих з наявністю в тканині пухлин патоморфологічних ознак цитостатичного і цитодеструктивного впливу становила від 28,8 (цитостатичні зміни) до 46,3 міс (цитостатично-цитодеструктивні зміни). У разі відсутності в пухлині гістоструктурних виявів лікувального патоморфозу інтервал між першою і повторної операціями скорочувався в середньому до 14,0 міс. Статистично значущі відмінності у тривалості безрецидивного періоду виявлено між пацієнтами, пухлини яких мали ознаки цитостатичної і цитодеструктивної дії променевої терапії, та з відсутністю таких ознак.

Застосування сучасних методів лікування МБ у дорослих осіб дозволяє збільшити тривалість безрецидивного періоду. Однак, існують нечутливі до опромінення пухлини; необхідне подальше вивчення природи цієї резистентності, а також перегляду показань до опромінення, удосконалення протоколів ПТ з урахуванням індивідуальної чутливості МБ дорослих та інших злоякісних пухлин людини. Це актуальна проблема сучасної онкології, від її вирішення залежить тривалість і якість життя онкохворих. Крім того, важливим є вирішення організаційних питань, зокрема, стандартизація протоколів комбінованого лікування, створення єдиного реєстру хворих і їх диспансерного спостереження після діагностики та хірургічного лікування.

Відкритими є питання комбінації хірургічного та променевого лікування, превентивних курсів ад'ювантної терапії для попередження метастазування МБ тощо.

Отримані результати комплексного дослідження медулобластом дорослих пацієнтів свідчать, що, не дивлячись на значний прогрес у вивченні етіології, патогенезу, молекулярно-генетичних механізмів, імуногістохімічних та інших ознак цих пухлин, діагностика та комбіноване лікування медулобластом дорослих потребують подальшого вдосконалення. Подальші успіхи в лікуванні медулобластом залежать від впровадження в практику нових даних про патогенез медулобластом. Вивчення морфологічних, молекулярних і вірусологічних характеристик МБ, удосконалення протоколів ПТ при МБ у дорослих, ранній початок терапії,

більш широке використання ХТ, своєчасна діагностика продовженого росту — це шлях до підвищення ефективності лікування, збільшення тривалості та якості життя пацієнтів. Зокрема, слід враховувати наявність вірусної персистенції, вміст стовбурових пухлинних клітин, особливості ультраструктурної будови, наявність молекулярних маркерів проліферації та інвазивності. Поєднання зусиль нейрохірургів, радіологів, морфологів, генетиків, вірусологів у вирішення наукових та організаційних задач, які спрямовані на подальше вивчення біології цих пухлин та удосконалення методів ранньої діагностики і комбінованого лікування, дозволить суттєво покращити якість та тривалість життя хворих з медулобластомами.

ВИСНОВКИ

1. На матеріалі дисертаційного дослідження визначено два вікових піки збільшення частоти захворюваності серед дорослих хворих з медулобластомами — 20–25 та 30–35 років з тенденцією до зменшення захворюваності у пацієнтів похилого віку. Частка хворих віком 55–65 років склала лише 3% від загальної кількості спостережень. Відмічено значне переважання кількості пацієнтів чоловічої статі, співвідношення чоловіків і жінок — 60,9 і 39,1% відповідно.

2. Виявлено, що тривалість клінічних проявів у дорослих хворих з медулобластомами становила у середньому $(6,3 \pm 0,96)$ міс (від 1 до 36 міс). Основними симптомами були статокординаторні порушення — у 76,6%, головний біль — у 91,3% хворих. Ознаки внутрішньочерепної гіпертензії з явищами застійних дисків зорових нервів виявлено у 43,1% пацієнтів.

3. Класичний варіант гістологічної будови медулобластом у дорослих виявлено у 62,3% спостережень, десмопластичний — у 23,8%, анапластичний — у 13,9%. Медулобластоми з підвищеною нодулярністю у дорослих пацієнтів не зустрічались.

4. Дослідження морфологічної будови медулобластом виявило гістоструктурну подібність медулобластом у дітей та дорослих. Але за результатами електронно-мікроскопічних досліджень встановлено ультраструктурні відмінності у розмірі ядра, кількості ядерця, структурі мітохондрій і хроматину, довжині та ширині міжклітинних контактів.

5. Медулобластоми на стадії T_1M_0 - T_2M_0 за модифікованою класифікацією Chang (2002) виявлено у 28% пацієнтів, у 44,2% хворих пухлини були діагностовані на стадії $T_{3a}M_0$ і спричиняли розвиток оклюзійної гідроцефалії. Пухлини великого розміру на стадіях $T_{3b}M_0$ - T_4M_0 з вростанням у стовбур мозку спостерігали у 27,9% пацієнтів. Метастазування

на момент установлення первинного діагнозу стадії M₁-M₃ виявлено лише у 3 (1,5%) пацієнтів.

6. При дослідженні тканини медулобластом виявлено їх контамінацію вірусами герпесу 1, 2, 7, 8-го типів, цитомегаловірусом та вірусом Епштейна-Барр. Найчастіше в тканині пухлин визначали два віруси – цитомегаловірус та вірус Епштейна-Барр. Залежно від контамінації пухлинного вогнища вірусами медулобластоми дорослих розділили на такі групи: пухлини, які не містили вірусів (31%), пухлини з контамінацією цитомегаловірусом та вірусом Епштейна-Барр одночасно (45,2%), пухлини з цитомегаловірусом (11,9%), пухлини з вірусом Епштейна-Барр (11,9%). Встановлено, що пухлини з контамінацією двома вірусами мають більший розмір та коротший термін безрецидивного періоду.

7. У тканині 68,2% досліджених зразків медулобластом дорослих виявлено стовбурові пухлинні клітини, тоді як у медулобластомах дітей вони були наявні у 85,4% спостережень, у гліобластомах — у 90,4%. Пухлини хворих з наявністю стовбурових пухлинних клітин переважно належали до стадій T_{3a}-T₄ за класифікацією Chang (2002). Для цієї групи хворих був характерний короткий інтервал між першою та повторною операцією.

8. Визначення молекулярних маркерів на клітинах медулобластом у дорослих та дітей виявило вірогідно меншу кількість клітин у пухлинах дорослих пацієнтів, які експресували молекули нейрональної клітинної адгезії (NCAM), Fas-рецептор апоптозу, фактор росту-рецептор інтерлейкіну-2, що свідчить про відмінності між клітинами пухлин дорослих та дітей і меншу проліферативну та інвазивну здатність пухлин у дорослих.

9. Ознаки продовженого росту або метастазування медулобластом у різні терміни після операції виявлено у 52 (26%) пацієнтів, серед них продовжений ріст у зоні операції — у 38, метастазування по лікворних шляхах головного і спинного мозку — у 14.

10. Встановлено 3 варіанти патоморфологічних змін у медулобластомах дорослих, індукованих впливом променевої терапії:

цитостатичні, цитодеструктивні та цитостатично-цитодеструктивні. Найбільша тривалість безрецидивного періоду спостерігалася у разі цитостатично-цитодеструктивного впливу променевої терапії на тканину медулобластом.

11. У 22,5% досліджених зразків медулобластом у дорослих після проведення променевої терапії були відсутні ознаки цитостатичного ефекту або цитодеструктивних змін та виявлено ознаки посилення проліферації пухлинних клітин, що дало підставу розподілити медулобластоми дорослих за чутливістю до променевої терапії на дві групи — резистентні до променевої терапії (22,5%) та чутливі (77,5%).

12. Встановлено, що у пацієнтів з медулобластомами стадій $T_{3b}M_0$ - T_4M_0 за класифікацією Chang (2002) медіана безрецидивного виживання була значно меншою (24 міс), ніж у пацієнтів з медулобластомами стадій T_1M_0 - $T_{3a}M_0$ (42 міс). Відсутність вrostання пухлини в стовбур мозку є чинником, який впливає на радикальність оперативних втручань та збільшує тривалість безрецидивного періоду. Медіани безрецидивного виживання у дорослих пацієнтів з медулобластомами класичного та десмопластичного типу майже не відрізнялись (36 та 35 міс відповідно). Значно меншою медіана безрецидивного виживання була у пацієнтів з анапластичними медулобластомами (12 міс).

13. Радикальність хірургічного видалення медулобластом визначалась анатомо-топографічними особливостями пухлин. Видалення пухлини по перифокальній зоні росту (тотальне) проведене у 62%, субтотальне — у 15,2%, часткове — у 22,8% пацієнтів.

14. Впровадження сучасних нейрохірургічних та анестезіологічних технологій в останні 13 років забезпечило проведення у 88,4% спостережень тотального чи субтотального видалення пухлини на тлі відсутності післяопераційної летальності. Підвищення радикальності видалення пухлини сприяло підвищенню якості життя хворих, швидкому початку ад'ювантної терапії та збільшенню тривалості безрецидивного періоду.

15. Аналіз результатів комбінованого лікування та вивчення морфологічних, молекулярних і вірусологічних характеристик медулобластом у дорослих дозволяє визначити подальші шляхи підвищення ефективності лікування за допомогою молекулярної діагностики (визначення наявності стовбурових пухлинних клітин, вірусів, молекулярних маркерів злоякісності у біопсійному матеріалі) та проведення з урахуванням отриманих результатів індивідуалізованого комплексного лікування медулобластом у дорослих.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При плануванні хірургічного та комбінованого лікування медулобластом у дорослих важливо проаналізувати дані анамнезу, неврологічний статус, динаміку і терміни появи симптомів захворювання, наявність супутніх захворювань, дані КТ та МРТ, розмір та локалізацію пухлини, наявність ліквородинамічних порушень, дані проведення попереднього лікування.

2. При плануванні хірургічного етапу лікування дорослих хворих з медулобластомами потрібно оцінити можливість тотального видалення пухлини зі збереженням високої якості життя. Для цього необхідно визначити місце первинного росту пухлини, зв'язок її зі стовбуровими відділами головного мозку, структуру та ступінь васкуляризації медулобластом. Особливу увагу слід приділити доопераційній підготовці та анестезіологічному забезпеченню для запобігання розвитку ранніх післяопераційних ускладнень, таких як набряк стовбура мозку, кровотеча та порушення ліквороциркуляції.

3. Хірургічне втручання у дорослих осіб має бути спрямоване на максимально радикальне видалення пухлини з обов'язковим застосуванням

мікрохірургічної техніки, що дає змогу контролювати видалення пухлини і забезпечити високу якість життя.

4. Рекомендується провести дослідження біопсійного матеріалу гістологічними та імуногістохімічними методами для визначення гістологічного варіанту медулобластоми, наявності стовбурових пухлинних клітин, вмісту фенотипово-молекулярних маркерів проліферації, що має важливе значення для вибору тактики подальшого лікування та прогнозу життя хворих.

5. Визначення наявності та виду вірусної контамінації медулобластом за допомогою ПЛР або імуногістохімічних методів може бути предиктором несприятливого перебігу захворювання та свідчити про необхідність діагностики латентної вірусної інфекції у хворих та її лікування.

6. Ад'ювантні методи лікування медулобластом слід призначати в ранній період після хірургічного видалення пухлини та проведення післяопераційних контрольних МРТ-досліджень головного і спинного мозку з урахуванням даних про вірусну контамінацію, наявність стовбурових пухлинних клітин та маркерів проліферативного потенціалу медулобластоми.

7. З огляду на отримані нами дані відносно розвитку продовженого росту або метастазування медулобластом у дорослих хворих переважно протягом перших двох років після лікування рекомендувати проведення МРТ-моніторингу кожні 3–4 міс у цей період для корекції лікування.

8. Запропоновано для швидкого визначення типу вірусної контамінації медулобластом використовувати нові методики — отримання ДНК із тканини пухлин для полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) (патент України на корисну модель №99734 від 25.06.2015 р.) та методику дослідження біопсійного матеріалу на наявність герпес-вірусної контамінації пухлини (патент України на корисну модель №94944 від 10.12.2014 р.). Рекомендовано визначати в біопсійному матеріалі такі молекулярні предикти і маркери, як стовбурові клітини (CD-34, CD133), молекули клітинної адгезії, апоптозу та проліферації та використовувати отримані дані для оцінки

ступеня злякисності медулобластом дорослих та прогнозування результатів лікування (патент України на корисну модель №78108 від 11.03.2013 р.).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Арендт А.А. Опухоли головного мозга / А.А. Арендт // Основы нейрохирургии детского возраста; под. ред. А.А. Арендта, С.И. Нерсесянц. — М.: Медицина, 1968. — гл.ХІ. — С.385–450.
2. Вирозуб И.Д. К вопросу об особенностях медуллобластом мозжечка / И.Д. Вирозуб // Журн. невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 1960. — Т.60, №4. — С.434–439.
3. Орлов Ю.А. Эпидемиология и результаты лечения опухолей головного мозга у детей (обзор литературы) / Ю.А. Орлов // Укр. нейрохірург. журн. — 2000. — №2. — С.5–14.
4. Epidemiology of adult medulloblastoma / M.T. Giordana, P. Schiffer, M. Lanotte [et al.] // Int. J. Cancer. — 1999. — Vol.80. — P.689–692.
5. Алексеева В.С. Медуллобластомы задней черепной ямки у взрослых / В.С. Алексеева // Вопр. нейрохирургии. — 1959. — №6. — С.30–33.
6. Озеров С.С. Клиническая и гистологическая характеристика медуллобластом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.00.28 — нейрохирургия / С.С. Озеров. — М., 2000. — 28 с.
7. Common strategy for adult and pediatric medulloblastoma: a multicenter series of 253 adult / L. Padovani, M. Sunyach, D. Perol [et al.] // J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. — 2007. — Vol.68, N2. — P.433–440.
8. Do children and adults differ in survival from medulloblastoma? A study from the SEER registry / E.K. Curran, G.M. Le, K.L. Sainani [et al.] // J. Neurooncol. — 2009. — Vol.95. — P.81–85.
9. Multifocal presentation of medulloblastoma in adulthood / P. Ciccarino, A. Rotilio, M. Rossetto [et al.] // J. Neurooncol. — 2012. — Vol.107, N2. — P.233–237.

10. Riffaud L. Survival and prognostic factors in a series of adults with medulloblastomas / L. Riffaud, S. Saikali, E. Leray [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2009. — Vol.111, N3. — P.478–487.
11. Characteristics and outcome of medulloblastoma adults / C. Ang, D. Hauerstock, M. Guiot [et al.] // *Pediatr. Blood Cancer.* — 2008. — Vol.51. — P.603–607.
12. Смирнов Л.И. Опухоли головного и спинного мозга / Л.И. Смирнов. — М.: Медгиз, 1962. — 188 с.
13. Хоминский Б.С. Гистологическая диагностика опухолей центральной нервной системы (со 187 микрофотограммами) / Б.С. Хоминский. — М.: Медицина, 1969. — 239 с.
14. Бродский Ю.С. Комбинированное лечение детей при медуллобластомах мозжечка / Ю.С. Бродский, Ю.А. Орлов, И.А. Бродская // *Клин. онкология: респ. межвед. сб.* — К.: Здоровья, 1991. — вып.11. — С.56–60.
15. Мацко Д.Е. Атлас опухолей центральной нервной системы (гистологическое строение) / Д.Е. Мацко, А.Г. Коршунов. — СПб.: изд-во РНХИ им. А.Л. Поленова, 1998. — 197 с.
16. Long term result of prospective study on the treatment of medulloblastoma in adult / A.A. Brandes, E. Franceschi, A. Tosoni [et al.] // *Cancer.* — 2007. — Vol.110. — P.2035–2041.
17. Lai R. Survival of patients with adult medulloblastoma. A population-based study / R. Lai // *Cancer.* — 2008. — Vol.112, N7. — P.1568—1574.
18. Adult medulloblastoma comprises three major molecular variants / M. Remke, T. Hielscher, P.A. Northcott [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — Vol.29. — P.2717–2723.
19. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus / M.D. Taylor, P.A. Northcott, A. Korshunov [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2012. — Vol.123. — P.465–472.
20. Evolution of the management of pediatric and adult medulloblastoma / C. Vigneron, N. Entz-Werle, P. Lutz [et al.] // *Cancer Radiother.* — 2015. — Vol.19, N5. — P.347–357.

21. Adult medulloblastoma: a single institution experience / M. Nazmy, Y. Khafaga, A. Al Hebshi [et al.] // *Gulf J. Oncol.* — 2014. — Vol.1, N16. — P.27–31.
22. Pediatric and adult sonic hedgehog medulloblastomas are clinically and molecularly distinct / P.A. Northcott, T. Hielscher, A. Dubuc [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2011. — Vol.122, N2. — P.231–240.
23. Gene expression of growth signaling pathways is up-regulated in CD133-positive medulloblastoma cells / C. Gu, N. Yokota, Y. Gao [et al.] // *Oncol. Lett.* — 2011. — Vol.2, N2. — P.357–361.
24. Celecoxib enhances radiosensitivity in medulloblastoma-derived CD133-positive cells / K.H. Chen, C.C. Hsu, W.S. Song [et al.] // *Childs Nerv. Syst.* — 2010. — Vol.26, N11. — P.1605–1612.
25. Childhood and adult medulloblastoma: What difference? / L. Padovani, N. Andre, C. Carrie, X. Muracciole // *Cancer. Radiother.* — 2009. — Vol.13. — P.530–535.
26. CBTRUS (Central Brain Tumors Registry of the United States) 2004–2005. Primary Brain Tumors in the United States. Statistical Report. — режим доступа: www.cbtrus.org/reports/2004-2005/2005report.
27. Farwell J.R. Adult occurrence of medulloblastoma / J.R. Farwell, J.T. Flannery // *Acta Neurochir. (Wien)*. — 1987. — Vol.86. — P.1–5.
28. Medulloblastoma / L. Padovani, N. Andre, J.C. Gentet, X. Muracciole // *Eur. J. Cancer.* — 2011. — Vol.47, suppl.3. — P.338.
29. Adult cerebellar medulloblastomas: the pathological, radiographic, and clinical disease spectrum / J.L. Hubbard, B.W. Scheithauer, D.B. Kispert [et al.] // *J. Neurosurg.* — 1989. — Vol.70. — P.536–544.
30. Medulloblastoma in adults: treatment results and prognostic factors / U. Abacioglu, O. Uzel, M. Sengoz [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2002. — Vol.54, N3. — P.855–860.
31. Kostaras X. Management of recurrent medulloblastoma in adult patients: a systematic review and recommendations / X. Kostaras, J.C. Easaw // *J. Neurooncol.* — 2013. — Vol.115, N1. — P.1–8.

32. New perspectives in the treatment of adult medulloblastoma in the era of molecular oncology / A.A. Brandes, M. Bartolotti, G. Marucci [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* — 2015. — Vol.94, N3. — P.348–359.
33. Adult medulloblastoma: prognostic factors and patterns of relapse / A.W. Chan, N.J. Tarbell, P.M. Black [et al.] // *Neurosurgery.* — 2000. — Vol.47, N3. — P.625–632.
34. Gender affects survival for medulloblastoma only in older children and adults: a study from the surveillance epidemiology and end results registry / E.K. Curran, K.L. Sainani, G.M. Le [et al.] // *Pediatr. Blood Cancer.* — 2009. — Vol.52. — P.60–64.
35. Medulloblastomas: review / L. Taillandier, M. Blonski, C. Carrie [et al.] // *Rev. Neurol. (Paris).* — 2011. — Vol.167, N5. — P.431–448.
36. Medulloblastoma in adult: a series from Brazil / S.M.R. Malheiros, C.M. R. Franco, J.N. Stavale [et al.] // *J. NeuroOncol.* — 2002. — Vol.60. — P.247–253.
37. Medulloblastoma / L. Padovani, N. Andre, J.C. Gentet, X. Muracciole // *Eur. J. Cancer.* — 2011. — Vol.47, suppl.3. — P.338.
38. Are childhood and adult medulloblastomas different? A comparative study of clinicopathological features, proliferation index and apoptotic index / C. Sarkar, P. Pramanic, A.K. Karak [et al.] // *J. NeuroOncol.* — 2002. — Vol.59. — P.49–61.
39. Bailey P. Med ulloblastoma cercbelli: a common type of midcerebellar glioma of childhood / P. Bailey, H. Cushing // *Arch. Neurol. Psychiat.* — 1925. — Vol.14. — P.192–223.
40. Schaper A. Die morphologische und histologische Entwicklung des Kleinhirns der Teleostiere / A. Schaper // *Anat. Anz.* — 1994. — Vol.9. — P.489–501.
41. Penfield W. Classification of glyomas and neuroglia cell types / W. Penfield // *Arch. Neurol. Psychiat.* — 1931. — Vol.26. — P.745–753.
42. Roussy G. Histologic classification of tumors of central nervous system / G. Roussy, C. Oberling // *Arch. Neurol. Psychiat.* — 1932. — Vol.27. — P.1281–

- 1289.
43. Corcoran A. Testing the "Go or Grow" hypothesis in human medulloblastoma cell lines in two and three dimensions / A. Corcoran, R.K. Del Maestro // *Neurosurgery*. — 2003. — Vol.53. — P.174–183.
 44. Stevenson L. Nature and origin of some tumors of cerebellum / L. Stevenson, F. Echlin // *Arch. Neurol. Psychiat.* — 1934. — Vol.31. — P.93–109.
 45. Glialfibrillary acidic protein in medulloblastomas / T. Kumanishi, K. Washiyama, K. Watabe [et al.] // *Acta Neuropathol. (Berlin)*. — 1985. — Vol.67. — P.1–5.
 46. Prognostic factors and treatment results for primitive neuroectodermal tumors in children using radiation and chemotherapy: a Children's Cancer Group Randomized Trial / B. Cohen, P. Zeltzer, J. Boyett [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 1996. — Vol.13. — P.1687–1696.
 47. Hart M.N. Primitive neuroectodermal tumors of the brain in children / M.N. Hart, K.M. Early // *Cancer*. — 1973. — Vol.32. — P.890–897.
 48. The treatment of adults with medulloblastoma a prospective study / A.A. Brandes, M. Ermani, P. Amista [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2003. — Vol.57. — P.755–761.
 49. Elshihabi S. Lipomatous medulloblastoma: a rare adult tumor variant with a uniquely favorable prognosis / S. Elshihabi, M. Husain, M. Linskey // *Surg. Neurol.* — 2003. — Vol.60. — P.566–570.
 50. Disseminated ependymomas of the central nervous system / A.R. Rezai, H.H. Woo, M. Lee [et al.] // *J. Neurosurg.* — 1996. — Vol.85. — P.618–624.
 51. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system / D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2007. — Vol.114, N2. — P.97–109.
 52. Anaplasia is rare and does not influence prognosis in adult medulloblastoma / T.M. Giordana, C.D. Agostino, B. Polio [et al.] // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* — 2005. — Vol.64, N10. — P.869–874.
 53. Cerebellar, desmoplastic medulloblastomas. A further immunohistochemical characterization of the reticulin-free pale islands / C. Katsctos, M. Herman, A.

- Frankfurter [et al.] // Arch. Pathol. Lab. Med. — 1989. — Vol.113. — P.1019–1029.
- 54.Stratification of medulloblastoma on the basis of hislopathological grading / F. Giangaspero, S. Wellek, J. Masuoka [et al.] // Acta Neuropathol. — 2006. — Vol.112. — P.5–12.
- 55.Diagnostic markers in pediatric medulloblastoma: a Pediatric Oncology Group Study / R.E. McLendon, H.S. Friedman, L.E. Kun, S.H. Bigner // Histopathology. — 1999. — Vol.34. — P.154–162.
- 56.Eberhart C.G. Anaplasia and grading in medulloblastomas / C.G. Eberhart, P.C. Burger // Brain Pathol. — 2003. — Vol.13. — P 376–385.
- 57.Outcome and prognostic factors of desmoplastic medulloblastoma treated within a multidisciplinary treatment concept / S. Rieken, T. Gaiser, A. Mohr [et al.] // BMC Cancer. — 2010. — Vol.23, N10. — P.450.
- 58.Is medulloblastoma the same tumor in children and adults? / M.X. Giordana, P. Cavalla, A. Dutto [et al.] // J. NeuroOncol. — 1997. — Vol.35. — P.169–176.
- 59.Histopathologic grading of adult medulloblastomas / F.J. Rodriguez, C. Eberhart, B.P. O'Neill [et al.] // Cancer. — 2007. — Vol.109, N12. — P.2557–2565.
- 60.Smoll N.R. The incidence of medulloblastomas and primitive neurectodermal tumours in adults and children / N.R. Smoll, K.J. Drummond // J. Clin. Neurosci. — 2012. — Vol.19. — P.1541–1544.
- 61.Pediatric medulloblastoma: prognostic value of p53, bcl-2, Mib-1, and microvessel density / R. Miralbell, M. Tolnay, S. Bieri [et al.] // J. NeuroOncol. — 1999. — Vol.45. — P.103–110.
- 62.Nodule formation and desmoplasia in medulloblastomas — defining the nodular/desmoplastic variant and its biological behavior / C.S. McManamy, J. Pears, C.L. Weston [et al.] // Brain Pathol. — 2007. — Vol.17. — P.151–164.
- 63.Survival and prognostic factors of early childhood medulloblastoma: an international meta-analysis / S. Rutkowski, K. von Hoff, A. Emser [et al.] // J. Clin. Oncol. — 2010. — Vol.28. — P.4961–4968.
- 64.Brandes A.A. Review of the prognostic factors in medulloblastoma of children and

- adults / A.A. Brandes, M.K. Paris // *Crit. Rev. Oncol. / Hematol.* — 2004. — Vol.50. — P.121–128.
65. Medulloblastoma with extensive nodularity: a variant with favorable prognosis / F. Giangaspero, G. Perilongo, M.P. Fondelli [et al.] // *J. Neurosurg.* — 1999. — Vol.91. — P.971–977.
66. Adult neuroectodermal tumors of posterior fossa (medulloblastoma) and of supratentorial sites (stPNET) / A.A. Brandes, E. Franceschi, A. Tosoni [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. / Hematol.* — 2009. — Vol.71. — P.165–179.
67. "Large cell/anaplastic" medulloblastomas: a Pediatric Oncology Group study / H.G. Brown, J.L. Kepner, E.J. Perlman [et al.] // *J. Neuropathol. Experim. Neurol.* — 2000. — Vol.59, N10. — P.857–865.
68. Comparative genomic hybridization detects an increased number of chromosomal alterations in large cell/anaplastic medulloblastomas / C.G. Eberhart, J. Kratz, A. Schuster [et al.] // *Brain Pathol.* — 2002. — Vol.12. — P.36–44.
69. Large anaplastic medulloblastomas and medulloblastomas; clinicopathological and genetic features / J.R. Leonard, D.X. Cai, D.J. Rivet [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2001. — Vol.95. — P.82–88.
70. Morphophenotypic variation predicts clinical behavior in childhood non-desmoplastic medulloblastomas / C.S. McManamy, J.M. Lamon, R.E. Taylor [et al.] // *J. Neuropathol. Experim. Neurol.* — 2003. — Vol.62, N6. — P.627–632.
71. Medulloblastoma: histopathologic and molecular markers of anaplasia and biologic behavior / H.S. Min, Y.J. Lee, K. Park [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2006. — Vol.112. — P.13–20.
72. Rodriguez F.J. Anaplastic medulloblastoma with granular cell change / F.J. Rodriguez, B.W. Schickhauer // *Acta Neuropathol.* — 2006. — Vol.113, N1. — P.95–99.
73. Morphophenotype of medulloblastoma in children and adults. The size of nuclei / C. Dagostino, E. Clara, A. Chio, M.T. Giordana // *Clin. Neuropathol.* — 2006. — Vol.25, N5. — P.227–231.

74. Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade diffuse astrocytomas and oligodendrogliomas / Y. Okamoto, P.L. Di Patre, C. Burkhard [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2004. — Vol.108, N1. — P.49–56.
75. Medulloblastoma in adults: Treatment outcome, relapse patterns, and prognostic factors / S.F. Lai, C.W. Wang, Y.H. Chen [et al.] // *Strahlenther Onkol.* — 2012. — Vol.188, N10. — P.878–886.
76. Metastatic medulloblastoma in an adult; treatment with temozolomide. / J. Poelen, H.J. Bernsen, H.J., M.J. Prick // *Acta Neurol Belg.* - 2007. Vol 108, N2.-P.51-54.
77. Adult medulloblastomas: our experience / R. Rodríguez-Mena, R.A. Barbella-Aponte, J. M. Gallego-Sanchez, C. Barcia-Marino // *Neurocirugia (Astur).* — 2011. — Vol.22, N6. — P.488–497.
78. Medulloblastoma in adults: a series from Brazil / S.M. Malheiros, C.M. Franco, J.N. Stavale [et al.] // *J. Neurooncol.* — 2002. — Vol.60. — P.247–253.
79. Sarkar C. Medulloblastomas: new directions in risk stratification / C. Sarkar, P. Deb, M.C. Sharma // *Neurol. India.* — 2006. — Vol.54, N1. — P.16–23.
80. Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features / M. Kool, J. Koster, J. Bunt [et al.] // *PLoS One.* — 2008. — Vol.3. — e3088.
81. Biegel J.A. Cytogenetics and molecular genetics of childhood brain tumors / J.A. Biegel // *J. Neurooncol.* — 1999. — Vol.1. — P.139–151.
82. Biegel J.A. Genetics of pediatric central nervous system primitive tumors / J.A. Biegel // *J. Pediat. Hematol. Oncol.* — 1997. — Vol.19. — P.492–501.
83. Deletions mapping of the medulloblastoma locus on chromosome 17p / P.H. Cogen, L. Daneshvar, A.K. Metzger, M.S. Edwards // *Genomics.* — 1990. — Vol.8, N2. — P.279–285.
84. Ellison D. Classifying the medulloblastoma: insights from morphology and molecular genetics / D. Ellison // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* — 2002. — Vol.28, N4. — P.257–282.

85. Comparative genomic hybridization detects many recurrent imbalances in central nervous system primitive neuroectodermal tumors in children / H. Avet-Loiseau, A.M. Venuat, M.J. Terrier-Lacombe [et al.] // *Brit. J. Cancer.* — 1999. — Vol.79. — P.1843–1847.
86. Molecular cytogenetic analysis of medulloblastomas and supratentorial primitive neuroectodermal tumors by using conventional banding, comparative genomic hybridization, and spectral karyotyping / J. Bayani, M. Zielenska, P. Marrano [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2000. — Vol.93. — P.437–448.
87. Cytogenetic evaluation of isochromosome 17q in posterior fossa tumors of children and correlation with clinical outcome in medulloblastoma / C. De Chiara, A. Borghese, A. Fiorillo [et al.] // *Child. Nerv. Syst.* — 2002. — Vol.18, N8. — P.380–384.
88. Histopathologic grading of medulloblastomas: a Pediatric Oncology Group study / C.G. Eberhart, J.L. Kepner, P.T. Goldthwaite [et al.] // *Cancer.* — 2002. — Vol.94. — P.552–560.
89. Comparative genomic hybridization and histological variation in primitive neuroectodermal tumors / J.C. Nicholson, F.M. Ross, J.A. Kohler, D.W. Ellison // *Brit. J. Cancer.* — 1999. — Vol.80. — P.1322–1331.
90. Correlation of loss of heterozygosity at chromosome 9q with histological subtype in medulloblastomas / D. Schofield, D.C. West, D.C. Anthony [et al.] // *Am. J. Pathol.* — 1995. — Vol.146. — P.472–480.
91. Medulloblastoma with extensive nodularity in nevoid basal cell carcinoma syndrome / S. Aliani, J. Brunner, N. Graf [et al.] // *Med. Pediat. Oncol.* — 2003. — Vol.40, N4. — P.266–267.
92. ERBB2 up-regulates S100 A4 and several other prometastatic genes in medulloblastoma / R. Hernan, R. Fasheh, C. Calabrese [et al.] // *Cancer Res.* — 2003. — Vol.63, N1. — P.140–148.
93. MYCC and MYCN oncogene amplification in medulloblastoma / N. Aldosari, S.H. Bigner, P.C. Burger [et al.] // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 2002. — Vol.126. — P.540–544.

94. N-myc and c-myc oncogenes amplification in medulloblastomas. Evidence of particularly aggressive behavior of a tumor with c-myc amplification / M. Badiali, A. Pession, G. Basso [et al.] // *Tumori*. — 1991. — Vol.77. — P.118–121.
95. C-MYC expression in medulloblastoma and its prognostic value / J. Herms, I. Neidt, B. Luscher [et al.] // *Int. J. Cancer*. — 2000. — Vol.89. — P.395–402.
96. Mac Gregor D.N. Elevated c-myc expression in childhood medulloblastoma / D.N. Mac Gregor, E.B. Ziff // *Pediat. Res.* — 1990. — Vol.28. — P.63–68.
97. Molecular analysis of in childhood primitive neuroectodermal tumors defines markers associated with poor outcome / W.G. Scheurlen, G.C. Schwabe, S. Joos [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 1998. — Vol.16. — P.2478–2485.
98. MYC messenger RNA expression predicts survival outcome in childhood primitive neuroectodermal tumor/medulloblastoma / M.A. Grotzer, M.D. Hogarty, A.J. Janss [et al.] // *Clin. Cancer Res.* — 2001. — Vol.7. — P.2425–2433.
99. Molecular studies in pediatric medulloblastomas / C. Ramachandran, Z. Khatib, E. Escalon [et al.] // *Brain Tumor Pathol.* — 2002. — Vol.19, N1. — P.15.
100. Lee Y. DNA ligase IV suppresses medulloblastoma formation / Y. Lee, P.J. McKinnon // *Cancer Res.* — 2002. — Vol.62, N22. — P.6395–6399.
101. Analysis of the PTCH coding region in human rhabdomyosarcoma / J. Calzada-Wack, U. Schnitzbauer, A. Walch [et al.] // *Hum. Mutat.* — 2002. — Vol.20, N3. — P.233–234.
102. Induction of medulloblastomas in mice by sonic hedgehog, independent of Gli1 / H.L. Weiner, R. Bakst, M.S. Hurlbert [et al.] // *Cancer Res.* — 2002. — Vol.62, N22. — P.6385–6389.
103. Expression of the c-Myc protein in childhood medulloblastoma / C.S. Bruggers, K.F. Tai, T. Murdock [et al.] // *J. Pediat. Hematol. Oncol.* — 1998. — Vol.20. — P.18–25.

104. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and sonic hedgehog interact to control cerebellar granule precursor cell proliferation / A. Nicot, V. Lelievre, J. Tam [et al.] // *J. Neurosci.* — 2002. — Vol.22, N21. — P.9244–9254.
105. Patched acts catalytically to suppress the activity of Smoothed / J. Taipale, M. K. Cooper, T. Maiti, P. A. Beachy // *Nature.* — 2002. — Vol. 420, N 6914. — P. 445.
106. Henneg A. N-myc reexpression by sonic hedgehog signaling promotes proliferation in developing cerebellar granule precursor cells / A. Henneg, M. Cole, D. Rowten // *Development.* — 2003. — Vol.130, N1. — P.15–28.
107. Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade / D.M. Berman, S.S. Karhadkar, A.R. Hallahan [et al.] // *Science.* — 2002. — Vol.297, N5586. — P.1559–1561.
108. Role of Wnt pathway in medulloblastoma oncogenesis / N. Yokota, S. Nishizawa, S. Ohta [et al.] // *Int. J. Cancer.* — 2002. — Vol.101, N2. — P.198–201.
109. Maleci A. Medulloblastoma in children and in adults: a comparative study / A. Maleci, L. Cevroni, R. Delfini // *Acta Neurochir.* — 1992. — Vol.119. — P.62–67.
110. High incidence of medulloblastoma following X-ray-irradiation of newborn Pte1 heterozygous mice / S. Pazzaglia, M. Mancuso, M.J. Atkinson [et al.] // *Oncogene.* — 2002. — Vol.21, N49. — P.7580–7584.
111. A molecular fingerprint for medulloblastoma / Y. Lee, H.L. Miller, P. Jensen [et al.] // *Cancer Res.* — 2003. — Vol.63. — P.5428–5437.
112. Transcriptional profiling of medulloblastoma in children / P.C. Park, M.D. Taylor, T.G. Mainprize [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2003. — Vol.99. — P.534–541.
113. Roussel M.F. New concepts in organ site research on medulloblastoma: genetics and genomics / M.F. Roussel // *Future Oncol.* — 2010. — Vol.6, N8. — P.1229–1231.
114. Rubin J.B. Medulloblastoma: a problem of developmental biology / J.B. Rubin,

- D.H. Rowitch // *Cancer Cell*. — 2002. — Vol.2, N1. — P.7–8.
115. Altaba A.R. Gli and Hedgehog in cancer: tumours, embryos and stem cells / A.R. Altaba, P. Sanchez, N. Dahmane // *Nature Rev. Cancer*. — 2000. — Vol.2. — P.361–372.
 116. Hedgehog signaling promotes medulloblastoma survival via Bc/II / E.E. Bar, A. Chaudhry, M.H. Farah, C.G. Eberhart // *Am. J. Pathol.* — 2007. — Vol.170. — P.347–355.
 117. Kenney A.M. Nmyc upregulation by Sonic Hedgehog Signaling promotes proliferation in developing cerebellar granule neuron precursors / A.M. Kenney, M.D. Cole, D.H. Rowitch // *Development*. — 2003. — Vol.130. — P.15–28.
 118. Medulloblastoma subgroups remain stable across primary and metastatic compartments / X. Wang, A.M. Dubuc, V. Ramaswamy [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2015. — Vol.129, N3. — P.449–457.
 119. Polkinghorn W. Medulloblastoma: tumorigenesis, current clinical paradigm, and efforts to improve risk stratification / W. Polkinghorn, N. Tarbell // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* — 2007. — Vol.4. — P.295–304.
 120. Toftgard R. Hedgehog signaling in cancer / R. Toftgard // *C.M.L.S.* — 2000. — Vol.57. — P.1720–1731.
 121. Analysis of PTCH/SMO/SH11 pathway genes in medulloblastoma / R.H. Zurawel, C. Allen, S. Chiappa [et al.] // *Genes, Chromosomes & Cancer*. — 2000. — Vol.27. — P.44–51.
 122. Mutation in SUFU predispose to medulloblastoma / M.D. Taylor, L. Liu, C. Raffel [et al.] // *Nature Genetics*. — 2002. — Vol.31, N3. — P.306–310.
 123. Deletion of AXIN1, a component of the WNTV wingless pathway, in sporadic medulloblastomas / R.P. Dahmen, A. Koch, D. Denkhaus [et al.] // *Cancer Res.* — 2001. — Vol.61. — P.7039–7043.
 124. Mutations of the Wnt antagonist AXTN2 (Conductin) result in TCF-dependent transcription in medulloblastomas / A. Koch, A. Hrychyk, W. Hartmann [et al.] // *Int. J. Cancer*. — 2007. — Vol.121. — P.284–291.
 125. Novel oncogene amplifications in tumors from a family with Li-Fraumeni

- syndrome / J. Rieber, M. Remke, C. Hartmann [et al.] // *Genes, Chromosomes & Cancer*. — 2009. — Vol.48, N7. — P.558–568.
126. Null mutation of DNA strand break-binding molecule poly (ADP-ribose) polymerase causes medulloblastomas in p53^{-/-} mice / W.M. Tong, H. Ohgaki, H. Huang [et al.] // *Am. J. Pathol.* — 2003. — Vol.162, N1. — P.343–352.
 127. Taylor M.D. Molecular insight into medulloblastoma and central nervous system primitive neuroectodermal tumor biology from hereditary syndromes: a review / M.D. Taylor, T.G. Mainprize, J.T. Rutka // *Neurosurgery*. — 2000. — Vol.47, N4. — P.888–901.
 128. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants / P.A. Northcott, A. Korshunov, H. Witt [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — Vol.29. — P.1408–1414.
 129. Genomic and protein expression profiling identifies CDK6 as novel independent prognostic marker in medulloblastoma / F. Mendrzyk, B. Radlwimmer, S. Joos [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol.23. — P.8853–8862.
 130. Isochromosome breakpoints on 17p in medulloblastoma are flanked by different classes of DNA sequence repeats / F. Mendrzyk, A. Korshunov, G. Toedt [et al.] // *Genes, Chromosomes & Cancer*. — 2006. — Vol.45. — P.401–410.
 131. Pleiotropic role for MYCN in medulloblastoma / F.J. Swartling, M.R. Grimmer, C.S. Hackett [et al.] // *Genes & Development*. — 2010. — Vol.24. — P.1059–1072.
 132. Universal poor survival in children with medulloblastoma harboring somatic TP53 mutations / U. Tabori, B. Baskin, M. Shago [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol.28. — P.1345–1350.
 133. Genomic identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations / M.C. Thompson, C. Fuller, T.L. Hogg [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol.24. — P.1924–1931.
 134. Tibiletti M.G. Interphase FISH as a new tool in tumor pathology / M.G. Tibiletti // *Cytogen. Genome Res.* — 2007. — Vol.118. — P.229–236.
 135. Diagnosis of multiple cancer types by shrunken centroids of gene expression /

- R. Tibshirani, T. Hastie, B. Narasimhan, G. Chu // P.N.A.S. — 2002. — Vol.99, N10. — P.6567–6572.
136. Detection of oncogene amplifications in medulloblastomas by comparative genomic hybridization and array-based comparative genomic hybridization / C.Y.K. Tong, A.B.Y. Hui, X-L. Yin [et al.] // J. Neurosurg. Pediatr. — 2004. — Vol.100, N2, suppl. — P.187–193.
137. Detection of i(17q) chromosome by fluorescent in situ hybridization (FISH) with interphase nuclei in medulloblastoma / A.M. Vagner-Capodano, H. Zattara-Carmoni, D. Gambarelli [et al.] // Cancer Genet. Cytogenet. — 1994. — Vol.78. — P.1–6.
138. From cytogenetics to cytogenomics of brain tumors: 1. Medulloblastoma / A.M. Vagner-Capodano, H. Zattara-Cannoni, B. Quilichini [et al.] // Bull. Cancer. — 2003. — Vol.90, N4. — P.315–318.
139. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer Group 921 randomized phase III study / P.M. Zeltzer, J.M. Boyett, J.L. Finlay [et al.] // J. Clin. Oncol. — 1999. — Vol.17, N3. — P.832–845.
140. Березин В.А. Молекулы клеточной адгезии нервной ткани / В.А. Березин // Успехи соврем. биологии. — 1986. — Т.101, №1. — С.54–68.
141. Березин В.А. Специфические белки нервной ткани / В.А. Березин, Я.В. Белик. — К.: Наук. думка, 1990. — 264 с.
142. Нейроспецифические мембранные антигены в опухолях головного мозга человека / В.А. Березин, Е.Н. Жмарева, Т.И. Шаповал, Х.М. Жолудь // Нейрохимия. — 1994. — Т.11, №3. — С.269–275.
143. Edelman J.M. Expression of cell adhesion molecules during embryogenesis and regeneration / J.M. Edelman // Exp. Cell Res. — 1984. — Vol.161, N1. — P.1–16.
144. Parker H. Morphological, immunocytochemical and flow cytometric in vitro characterization of a surface adherent medulloblastoma / K. Parker, G.J. Pilkington // Anticancer Res. — 2005. — Vol.25, N6B. — P.3855–3863.

145. Шубич М.Г. Адгезивные межклеточные взаимодействия / М.Г. Шубич, М.Г. Авдеева, А.Д. Вакуленко // *Арх. патологии.* — 1997. — Т.59, №6. — С.3–9.
146. Шепелева И.И. Нейрогенные молекулы клеточной адгезии (структура, функции и клинико-диагностическая перспектива) / И.И. Шепелева, В.П. Чехонин // *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* — 1996. — №5. — С.113–118.
147. Нейроспецифические белки в диагностике опухолей головного мозга человека / В.А. Березин, Е.Н. Жмарева, С.А. Ромоданов [и др.] // *Вопр. онкологии.* — 1995. — Т.31, №12. — С. 17.
148. Gene expression of neural cell adhesion molecule L-1 in malignant gliomas and biological significance of L-1 in glioma / O. Isumoto, A.N. Ohnishi, S. Hiraga [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* — 1996. — Vol.15. — P.271–283.
149. Expression of neural cell adhesion molecule in astrocytic tumors: an inverse correlation with malignancy / H. Sasaki, K. Gushido, E. Sheda [et al.] // *Cancer.* — 1998. — Vol.82, N10. — P.1921–1931.
150. Figorella-Branger D.F. Differential spectrum of expression of neural cell adhesion molecule isoforms and L-1 adhesion molecules on human neuroectodermal tumors / D.F. Figorella-Branger, P.L. Durbel, G. Rongon // *Cancer Res.* — 1990. — Vol.19. — P.6364–6370.
151. Correlation of expression of NCAM and CD-3 ganglioside to matile behaviour in neoplastic glia / A. Gratsa, H.K. Rooproi, J.P. Rogers, K.H. Martin // *Auticanc. Res.* — 1997. — Vol.66. — P.4111–4117.
152. Барышников А.Ю. Иммунологические проблемы апоптоза / А.Ю. Барышников, Ю.В. Шишкин. — М.: Эдиториал, 2002. — 319 с.
153. Владимирская Е.Б. Апоптоз и его роль в развитии опухолевого роста / Е.Б. Владимирская, А.А. Молчан, А.Г. Румянцев // *Гематология и трансфузиология.* — 1997. — Т.42, №5. — С.4–9.

154. Фильченков А.А. Апоптоз: краткая история, молекулярные механизмы, методы выявления и возможное значение в онкологии / А.А. Фильченков, Р.С. Стойка // Эсперим. онкология. — 1996. — Т.18, №6. — С.435–448.
155. Expression of Fas/APO-1 during the progression of astrocytomas / O. Tachibone, N. Nakazawa, J. Lampe [et al.] // Cancer Res. — 1995. — Vol.55, N23. — P.5528–5530.
156. Anti Fas/APO-1 antibody-mediated apoptosis of cultured human glioma cells: induction and modulation of sensitivity by cytokines / M. Weller, K. Frei, P. Groscurth [et al.] // J. Clin. Invest. — 1994. — Vol.94, N3. — P.954–965.
157. Fas/APO-1 gene transfer for human malignant glioma / M. Weller, U. Malipiero, E.A. Rensing [et al.] // Cancer Res. — 1995. — Vol.55, N13. — P.2936–2944.
158. Korshunov A. Immunohistochemical markers for prognosis of average-risk pediatric medulloblastomas / A. Korshunov, M. Sadovnikova, S. Ozerov // J. Neurooncol. — 2002. — Vol.58, N3. — P.271–279.
159. Abocioglu U. Medulloblastoma in adults: Treatment results and prognostic factors / U. Abocioglu, O. Uzel // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. — 2002. — Vol.54, N3. — P.855–860.
160. Tu S.M. Stem-cell origin of metastasis and heterogeneity in solid tumours / S.M. Tu, S.H. Lin, C.J. Logothetis // Lancet Oncol. — 2002. — Vol.3, N8. — P.508–513.
161. Characterization of CD133+hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells / A. Suetsugu, M. Nagaki, H. Aoki [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2006. — Vol. 351, N 6. — P. 820–824.
162. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population / A. Eramo, F. Lotti, G. Sette [et al.] // Cell Death. Differ. — 2008. — Vol.15, N3. — P.504–514.
163. Tang N.G. Prostate cancer stem/progenitor cells: Identification, characterization, and implications / N.G. Tang, L. Patvarol // Mol. Carcinog. — 2007. — Vol.46, N1. — P.1–14.

164. Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma / G. Liu, X. Yuan, Z. Zeng [et al.] // *Mol. Cancer*. — 2006. — Vol.5. — P.67–77.
165. Hambardzumyan D. Radiation resistance and stem-like cells in brain tumors / D. Hambardzumyan, M. Squarto, E.C. Holland // *Cancer Cell*. — 2006. — Vol.10. — P.454–456.
166. The cancer stem cell hypothesis: a work in progress / N.G. Tang, C.Y. Park, L.E. Ailles, I.L. Weissman // *Lab Invest*. — 2006. — Vol.86, N9. — P.1203–1207.
167. Kosztowski T. Applications of neural and mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas / T.H. Kosztowski, B.S. Zaidi, A. Quinones-Hinojosa // *Expert. Rev. Anticancer. Ther.* — 2009. — Vol.9, N5. — P.597–612.
168. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors / H.D. Hemmati, I. Nakano, J.A. Lazareff [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2003. — Vol.100, N25. — P.15178–15183.
169. Stem cells, cancer, and cancer stem cells / T. Reya, S.J. Morrison, M.F. Clarke [et al.] // *Nature*. — 2001. — Vol.414, N2. — P.105–111.
170. Glioma stem cells involved in tumor tissue remodeling in a xenograft model / Y. Dong, G. Zhang, G. Huang [et al.] // *J. Neurosurg*. — 2010. — Vol.113. — P.249–260.
171. Identification of human brain tumour initiating cells / S.K. Singh, C. Hawkins, I.D. Clarke [et al.] // *Nature*. — 2004. — Vol.432, N3. — P.396–401.
172. Eberhart C.G. In search of the medulloblast: neural stem cells and embryonal brain tumors / C.G. Eberhart // *Neurosurg. Clin. N. Am.* — 2007. — Vol.18. — P.59–69.
173. High levels of PROM1 (CD133) transcript are a potential predictor of poor prognosis in medulloblastoma / A. Raso, S. Mascelli, R. Biassoni [et al.] // *J. NeuroOncol.* — 2011. — Vol.13, N5. — P.500–508.
174. Long-term exposure to imatinib reduced cancer stem cell ability through induction of cell differentiation via activation of MAPK signaling

- inglioblastoma cells / Y. Dong, Q. Han, Y. Zou [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* — 2012. — Vol.370, N1–2. — P.89–102.
175. Лисяный Н.И. Роль стволовых опухолевых клеток в патогенезе злокачественных глиальных опухолей мозга / Н.И. Лисяный // *Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга.* — К.: Интерсервис, 2011. — С.26–36.
176. Стволовые опухолевые клетки: новое направление в изучении, диагностике и лечении глиом головного мозга / Н.И. Лисяный, Д.Н. Станецкая, А.И. Ключникова [и др.] // *Материали наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Актуальні питання лікування гліом головного мозку».* — Львів, 2015. — С.26–27.
177. DMI 1 confers radioresistance to normal and cancerous neural stem cells through recruitment of the DNA damage response machinery / S. Facchino, M. Abdouh, W. Chato, G. Bernier // *J. Neurosci.* — 2010. — Vol.30. — P.10096–10111.
178. Isolation of tumour stem-like cells from benign tumours / Q. Xu, X. Yuan, P. Tunicci [et al.] // *Br. J. Cancer.* — 2009. — Vol.101, N2. — P.303–311.
179. Accumulation of CD-133-positive glioma cells after high –dose irradiation Gamma Knife surgery plus external beam radiation / K. Takamura, M. Aoyagi, H. Wakimoto [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2010. — Vol.113. — P.310–318.
180. Successful isolation and long-term establishment of a cell line with stem cell-like features from an anaplastic medulloblastoma / A. Raso, F. Negri, A. Gregorio [et al.] // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* — 2008. — Vol.34, N3. — P.306–315.
181. Hadjipanayis C.G. Tumor initiating cell in malignant gliomas: biology and implications for therapy / C.G. Hadjipanayis, E.G. van Meir // *J. Mol. Med.* — 2009. — Vol.87, N4. — P.367–374.
182. Fan X. Medulloblastoma stem cells / X. Fan, C.G. Eberhart // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol.26, N17. — P.2821–2827.

183. Moore P.S. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology / P.S. Moore, Y. Chang // *Nat. Rev. Cancer.* — 2010. — Vol.10, N12. — P.878–889.
184. Medulloblastomas and the human neurotropic polyomavirus, JCV / K. Khalili, B. Krynska, L. Del Valle [et al.] // *Lancet.* — 1999. — Vol.353. — P.1152–1153.
185. Detection of human neurotropic JC virus DNA sequence and expression of the viral oncogenic protein in pediatric medulloblastomas / B. Krynska, L. Del Valle, S. Croul [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — Vol.96. — P.11519–11524.
186. Natural Simian Virus 40 strains are present in human choroid plexus and ependymoma tumors / J.A. Lednicky, R.L. Garcea, D.J. Bergsagel, J.S. Butel // *Virology.* — 1995. — Vol.212. — P.710–717.
187. Simian virus 40 DNA sequences are present in human malignant mesotheliomas / J.R. Testa, M. Carbone, A. Hirvonen [et al.] // *Cancer Res.* — 1998. — Vol.58. — P.4505–4509.
188. Cytomegalovirus and cancer of the prostate: in vitro transformation of human cells / L. Geder, E.J. Sanford, E.R. Rohner [et al.] // *Cancer Treat. Rep.* — 1977. — Vol.61, N2. — P.139–146.
189. Evidence for the association of cytomegalovirus with carcinoma of the prostate / E.J. Sanford, L. Geder, A. Laychock [et al.] // *J. Urol.* — 1977. — Vol.118, N5. — P.789–792.
190. Detection of human cytomegalovirus in normal and neoplastic breast epithelium / L.E. Harkins, L.A. Matlaf, L. Soroceanu [et al.] // *Herpesviridae.* — 2010. — Vol.1, N1. — P.8–16.
191. Soroceanu L. Is HCMV a tumor promoter? / L. Soroceanu, C.S. Cobbs // *Virus Res.* — 2011. — Vol.157. — P.193–203.
192. Melnick M. Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: Cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship / M. Melnick, P. P.

- Sedghizadeh, C.N. Allen // *Exp. Mol. Pathol.* — 2012. — Vol.92. — P.118–125.
193. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma / C. Cobbs, L. Harkins, M. Samanta [et al.] // *Cancer.* — 2002. — Vol.62. — P.3347–3350.
194. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas / M.E. Scheurer, M.L. Bondy, K.D. Aldape [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 2008. — Vol.116. — P.79–86.
195. Shen Y. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins are mutagenic and mediate “hit-and-run” oncogenic transformation in cooperation with the adenovirus E1A proteins / Y. Shen, H. Zhu, T. Shenk // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1997. — Vol.94, N7. — P.3341–3345.
196. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression / J. Cinatl Jr., J.U. Vogel, R. Kotchetkov [et al.] // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2004. — Vol.28, N1. — P.59–77.
197. Lack of association of herpesviruses with brain tumors / S. Poltermann, B. Schlehofer, K. Steindorf [et al.] // *J. Neurovirol.* — 2006. — Vol.12, N2. — P.90–99.
198. Lack of association of cytomegalovirus with human S. brain tumors / Y. Lau, Y. Chen, W.G. Chen [et al.] // *Mod. Pathol.* — 2005. — Vol.18, N6. — P.838–843.
199. Human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes tumorigenesis / D. Maussang, M. Verzijl, R. van Walsum [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol.103. — P.13068–13073.
200. HCMV-encoded chemokine receptor US28 mediates proliferative signaling through the IL-6-STAT3 axis / E. Slinger, D. Maussang, A. Schreiber [et al.] // *Sci. Signal.* — 2010. — Vol.5. — P.58–64.

201. Sorg G. Strong conservation of the constitutive activity of the IE1/2 transcriptional control region in wild-type strains of human cytomegalovirus / G. Sorg, S.T. Stamminger // *Gen. Virol.* — 1998. — Vol.79. — P.3039–3047.
202. Murine cytomegalovirus paralyzes macrophages by blocking IFN gamma-induced promoter assembly / D.L. Popkin, M.A. Watson, E. Karaskov [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol.100. — P.14309–14314.
203. IL-10 induces DNA binding activity of three STAT proteins (Stat1, Stat3, and Stat5) and their distinct combinatorial assembly in the promoters of selected genes / J. Wehinger, F. Gouilleux, B. Groner [et al.] // *FEBS Lett.* — 1996. — Vol.394. — P.365–370.
204. Stimulation of B lymphocytes by cmvIL-10 but not LAcmvIL-10 / J.V. Spencer, J. Cadaoas, P. R. Castillo [et al.] // *Virology.* — 2008. — Vol.374. — P.164–169.
205. Abou-Ghazal M. The incidence, correlation with tumor-infiltrating inflammation, and prognosis of phosphorylated STAT3 expression in human gliomas / M. Abou-Ghazal, Yang Qiao // *Clin Cancer Res.* — 2008. — Vol.14. — P.8228–8235.
206. Microglia in the adult brain arise from Ly-6ChiCCR2+ monocytes only under defined host conditions / A. Mildner, H. Schmidt, M. Nitsche [et al.] // *Nat. Neurosci.* — 2007. — Vol.10. — P.1544–1553.
207. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: Evidence for Stat3-dependent and independent pathways / A.M. O'Farrell, Y. Liu, K. W. Moor [et al.] // *EMBO J.* — 1998. — Vol.17. — P.1006–1018.
208. Macrophages regulate the angiogenic switch in a mouse model of breast cancer / E. Lin, J.F. Li, L. Gnatovskiy [et al.] // *Cancer Res.* — 2006. — Vol.66. — P.11238–11246.
209. Demmler G. What is CMV? / G.J. Demmler // 2010 [Internet]. Available at: www.congenitalcmv.org/public.htm.

210. Soderberg-Naucler C. HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer / C. Soderberg-Naucler // *J. Clin. Virol.* — 2008. — Vol.41. — P.218–223.
211. Significant association of multiple human cytomegalovirus genomic loci with glioblastoma multiforme samples / P.A. Ranganathan, P. Clark, J. Kuo [et al.] // *J. Virol.* — 2012. — Vol.86, N2. — P.854–864.
212. Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target / J.C. Baryawno, N. Rahbar, A. Wolmer-Solberg [et al.] // *Klin. Invest.* — 2011. — Vol.121. — P.4043–4055.
213. Johnsen J.I. Is human cytomegalovirus a target in cancer therapy? / J.I. Johnsen, J.C. Baryawno, C. Soderberg-Naucler // *Oncotarget.* — 2011. — Vol.2. — P.1329–1338.
214. Soderberg-Naucler C. Cytomegalovirus infection in brain tumors A potential new target for therapy? / C. Soderberg-Naucler, J. Johnsen // *J. Oncoimmunol.* — 2012. — Vol.1, N5. — P.739.
215. Boeckh M. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle / M. Boeckh, A.P. Geballe // *J. Invest.* — 2011. — Vol.121, N5. — P.1673–1680.
216. Mitchell D.A. Adoptive immunotherapy for malignant glioma / D.A. Mitchell, P.E. Fecci, J.H. Sampson // *Cancer J.* — 2003. — Vol.9, N3. — P.157–166.
217. Reeves M. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation / M. Reeves, J. Sinclair // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2008. — Vol.325. — P.297–313.
218. Autologous T cell therapy for cytomegalovirus as a consolidative treatment for recurrent glioblastoma / A. Schuessler, C. Smith, L. Beagley [et al.] // *Cancer Res.* — 2014. — Vol.74, N13. — P.3466–3476.
219. Ex vivo functional analysis, expansion and adoptive transfer of cytomegalovirus-specific T-cells in patients with glioblastoma multiforme / T. Crough, L. Beagley, C. Smith [et al.] // *Immunol. Cell Biol.* — 2012. — Vol.90, N9. — P.872–880.

220. Hellstrand K. Valganciclovir in patients with glioblastoma / K. Hellstrand, A. Martner, T. Bergstrom // *N Engl. J. Med.* — 2013. — Vol.369, N21. — P.2066–2067.
221. Ahmed N. CMV-specific cytotoxic T lymphocytes expressing CAR targeting HER2 in patients with GBM (HERT–GBM) / N. Ahmed // *Clin. Trials.gov.* — 2014. — Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01109095>.
222. Glioblastoma cancer-initiating cells inhibit T-cell proliferation and effector responses by the signal transducers and activators of transcription 3 pathway / J. Wei, J. Barr, L–Y. Kong [et al.] // *Mol. Cancer Ther.* — 2010. — Vol.9, N1. — P.67–78.
223. Effects of valganciclovir as an add-on therapy in patients with cytomegalovirus-positive glioblastoma: a randomized, double-blind, hypothesis-generating study / G. Stragliotto, A. Rahbar, N.W. Solberg [et al.] // *Int. J. Cancer.* — 2013. — Vol.133, N5. — P.1204–1213.
224. Cyclooxygenase in biology and disease / R.N. Dubois, S.B. Abramson, L. Crofford [et al.] // *FASEB J.* — 1998. — Vol.12, N12. — P.1063–1073.
225. COX-2 blockade suppresses gliomagenesis by inhibiting myeloid-derived suppressor cells / M. Fujita, G. Kohanbash, W. Fellows-Mayle [et al.] // *Cancer Res.* — 2011. — Vol.71, N7. — P.2664–2674.
226. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors / J. L. Masferrer, K.M. Leahy, A. T. Koki [et al.] // *Cancer Res.* — 2000. — Vol.60, N5. — P.1306–1311.
227. Consensus on the role of human cytomegalovirus in glioblastoma / HCMV and Gliomas Symposium / K.S. Dziurzynski, A. Heimberger, R. Kalejta [et al.] // *Neuro Oncol.* — 2012. — Vol.14, N 3. — P.246–255.
228. Khalil E.M. Treatment results of adults and children with medulloblastoma NCI, Cairo University experience / E.M. Khalil // *J. Egypt. Natl. Canc. Inst.* — 2008. — Vol.20, N2. — P.175–186.
229. Артарян А.А. Опухоли мозжечка у детей / А.А. Артарян. — М.: Медицина, 1979. — 175 с.

230. Brain and spinal tumors of childhood arnold / D.A. Walker, G. Perilongo, J.A.G. Punt, R.E. Taylor. — London: Arnold, 2004. — 324 p.
231. Medulloblastomas in adults: prognostic factors and lessons from paediatrics / C.N. Fellay, D. Frappaz, M.P. Sunyach [et al.] // *Curr. Opin. Neurol.* — 2011. — Vol.24, N6. — P.626–632.
232. Comparison of CSF cytology and spinal magnetic resonance imaging in the detection of leptomeningeal disease in pediatric medulloblastoma or primitive neuroectodermal tumor / M. Fouladi, J.I. Gajjar, J.M. Boyett [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 1999. — Vol.17, N10. — P.3234–3237.
233. Treatment of children with medulloblastomas with reduced-dose craniospinal therapy and adjuvant chemotherapy: a Children's Cancer Group study / R.J. Packer, J. Goldwein, H.S. Nicholson [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 1999. — Vol.17, N7. — P.2121–2136.
234. Uncommon presentation of medulloblastoma / R. Kumar, G. Achari, D. Banerjee [et al.] // *Childs Nerv. Syst.* — 2001. — Vol.17. — P.538–542.
235. Роль химиотерапии в комплексном лечении опухолей головного мозга у детей / Б.В. Холодов, А.Ф. Бухны, О.Г. Желудкова [и др.] // *Педиатрия.* — 1995. — №2. — С.91.
236. Clinical, histopathologic, and molecular markers of prognosis: toward a new disease risk stratification system for medulloblastoma / A. Gajjar, R. Heman, M. Kocak [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2004. — Vol.22. — P.984–993.
237. Злокачественные тератоид-рабдоидные опухоли центральной нервной системы у детей / О.Г. Желудкова, А.Г. Коршунов, С.В. Горбатовых [и др.] // *Вопр. гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* — 2003. — №4. — С.32–39.
238. Rickert C.H. Abdominal metastases of pediatric brain tumors via ventriculo-peritoneal shunts / C.H. Rickert // *Child's Nerv. System.* — 1998. — Vol.14, N1–2. — P.10–14.
239. Cohen M.S. Brain tumors in children. Principles of diagnosis and treatment / M.S. Cohen, P. Duffner. — N.Y.: Raven Press, 1994. — 378 p.

240. Increased fluorine-18 2-fluoro-2-deoxy-d-glucose (FDG) uptake in childhood CNS tumors is correlated with malignancy grade: a study with FDG positron emission tomography/magnetic resonance imaging coregistration and image fusion / L. Borgwardt, L. Hojgaard, H. Carstensen [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol.23. — P.3030–3037.
241. Kalifa C. The therapy of infantile malignant brain tumors: current status / C. Kalifa, J. Grill // *J. NeuroOncol.* — 2005. — Vol.75. — P.279–285.
242. Противоопухолевая химиотерапия: справочник / под ред. Н.И. Переводчиковой. — М.: Медицина, 1993. — 224 с.
243. Survival and prognostic factors in a series of adult with medulloblastomas / L. Riffaud, S. Saikali, E. Leray [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2009. — Vol.111. — P.478–487.
244. Multivariate analysis of prognostic factors in adult patients with medulloblastoma: retrospective study of 156 patients / C. Carrie, C. Lasset, C. Alapetite [et al.] // *Cancer.* — 1994. — Vol.74, N8. — P.2352–2360.
245. Management of hydrocephalus in children with medulloblastoma: prognostic factors for shunting / M. Lee, J.H. Wisoff, R. Abbott [et al.] // *Pediatr. Neurosurg.* — 1994. — Vol.2. — P.240–247.
246. Mutism and pseudobulbar symptoms after resection of posterior fossa tumors in children: incidence and pathophysiology / I.F. Pollack, P. Polinko, A.L. Albright [et al.] // *Neurosurgery.* — 1995. — Vol.37. — P.885–893.
247. The surgical and natural morbidity of aggressive resection for posterior fossa tumors in childhood / D.D. Cochrane, B. Gustavsson, K.P. Poskitt [et al.] // *Pediatr. Neurosurg.* — 1994. — Vol.20. — P.19–29.
248. Tumour type and size are high risk factors for the syndrome of "cerebellar" mutism and subsequent dysarthria / C.E. Catsman-Berrevoets, H.R. van Donegan, P.G. Mulder [et al.] // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* — 1999. — Vol.67. — P.755–757.

249. Effects of medulloblastoma resections on outcome in children: a report from the Children's cancer Group / A.L. Albright, J.H. Wisoff, P.M. Zeltzer [et al.] // *Neurosurgery*. — 1996. — Vol.38. — P.265–271.
250. Medulloblastoma: clinical and biologic aspects / R.J. Packer, P. Cogen, G. Vezina [et al.] // *J. NeuroOncol.* — 1999. — Vol.1. — P.232–250.
251. Medulloblastoma. Prognostic factors / D. Jenkin, M.A. Shabanah, E.A. Shail [et al.] // *SIOP-ASPH/O MEETING, Canada, Monreal, 13—18 Sept, 1999, Abstract*. — P.279, N27.
252. Chang C.H. An operative staging system and a megavoltage radiotherapeutic technic for cerebellar medulloblastomas / C.H. Chang, E. M. Housepian, C. Herbert Jr. // *Radiology*. — 1969. — Vol.93, N6. — P.1351–1359.
253. Hyperfractionated craniospinal radiation in medulloblastoma / M.R. Marymont, J. Geohas, T. Tomita [et al.] // *Pediatr. Neurosurg.* — 1996. — Vol.24. — P.178–184.
254. Результаты комплексного лечения медуллобластом у детей старше 3-х лет высокой группы риска по протоколу M-2000 / О.Г. Желудкова, И.Д. Бородина, М.Г. Русанова [и др.] // *Материалы 1-ой Всерос. конф. по детской нейрохирургии (Москва, 18–20 июня 2003 г.)*. — Москва, 2003. — С.37.
255. Ferencz T. Combined adjuvant chemotherapy in malignant pediatric brain tumors — preliminary results / T. Ferencz, Cs. Csaki // *Med. Pediatr. Oncol.* — 1997. — Vol.29, N5. — P.113.
256. Gajjar A. Recent advances in therapy for medulloblastoma. USA, ASCO / A. Gajjar // *J. Clin. Oncol.* — 1999. — P.579–586.
257. Postoperative neoadjuvant chemotherapy before radiotherapy as compared to immediate radiotherapy followed by maintenance chemotherapy in the treatment of medulloblastoma in childhood: results of the German prospective randomized trial IN'91 / R. D. Hortmann, J. Kuhl, B. Timmermann [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2000. — Vol.46, N2. — P 269–279.

258. Quality control of radiotherapeutic treatment of medulloblastoma in a multicentric study: the contribution of radiotherapy technique to tumor relapse. The French Medulloblastoma Group / C. Carrie, C. Alapetite, P. Mere [et al.] // *Radiother. Oncol.* — 1992. — Vol.24. — P.77–81.
259. Low-dose craniospinal radiation therapy for medulloblastoma / F.E. Halberg, W.M. Wara, L.F. Fippin [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1991. — Vol.20. — P.651–654.
260. The treatment of medulloblastoma. Results of a prospective randomized trial of radiation therapy with and without CCNU, vincristine, and prednisone / A.E. Evans, R.D. Jenkin, R. Spost [et al.] // *J. Neurosurg.* — 1990. — Vol.72. — P.572–582.
261. Low dose hyperfractionated craniospinal radiation therapy for childhood cerebellar medulloblastoma: Early results of phase I–II study / U. Ricardi, L. Besenon, L. Cordero di Montezemolo [et al.] // *Eur. J. Cancer.* — 1997. — Abstracts of the Proceedings IX Congress ECCO (Hamburg, 1997). — P.911.
262. Treatment strategies for medulloblastoma and primitive neuroectodermal tumors / D.R. Gold, R.J. Packer, B.H. Cohen [et al.] // *Neurosurg. Focus.* — 1999. — Vol.7, N2. — e1.82.
263. Ilveskoski I. Growth impairment and growth hormone therapy in children treated for malignant brain tumors / I. Ilveskoski, U.M. Saarinen, T. Wiklund // *Eur. J. Pediatr.* — 1997. — Vol.156, N10. — P.764–769.
264. HIT-SIOP PNET 4 multicentre study of hyperfractionated versus conventional RT in standard risk medulloblastoma / B. Bannerling, S. Rutkowski, G. Gustafsson [et al.] // *SIOP Abstract Book, 40th Congress of the SIOP (Berlin, October 2–6, 2008).* — O.098. P.45–46.
265. Hypofractionated craniospinal radiotherapy and adjuvant chemotherapy for children with primitive neuroectodermal tumors / J.C. Allen, B. Donahue, R. Di Rosso, A. Nierenberg // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1996. — Vol.30. — P.1155–1161.

266. Radiation therapy quality in CCG/POG intergroup 9961: implications for craniospinal irradiation and the posterior fossa boost in future medulloblastoma trials / B. Donahue, M.A. Marymont, S. Kessel [et al.] // *Front. Oncol.* — 2012. — Vol.11, N2. — P.185.
267. Hyperfractionated craniospinal radiation therapy for primitive neuroectodermal tumors: results of a phase II study / M.D. Prados, M.S. Edwards, S.M. Chang [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1999. — Vol.43. — P.279–285.
268. Comparison of therapeutic dosimetric data from passively scattered proton and photon craniospinal irradiation for medulloblastoma / R.M. Howell, A. Giebel, W. Koontz-Raisig [et al.] // *Radiat. Oncol.* — 2012. — Vol.24, N7. — P.116.
269. Hyder D.J. High dose chemotherapy and autologous stem cell transplant for pediatric malignant brain tumors / D.J. Hyder, A.M. Butturini, C.P. Anderson // *Abstracts of the SIOP–ASPH/O MEETING (Montreal, 13–18 Sept, 1999).* — P.19, 201.
270. Robotically guided radiosurgery for children / C. Giller, B. Berger, D. Pistenmaa [et al.] // *Ped. Blood Cancer.* — 2005. — Vol.45. — P.304–310.
271. Christensen V. Proton beam irradiation in pediatric oncology an overview / V. Christensen, J. McDonough, Z. Tochner // *J. Ped. Hematol. Oncol.* — 2005. — Vol.27, N8. — P.444–448.
272. Dilemmas concerning dose distribution and the influence of relative biological effect in proton beam therapy of medulloblastoma / B. Jones, P. Wilson, A. Nagano [et al.] // *Br. J. Radiol.* — 2012. — Vol.85. — P.912–918.
273. Carlos A. Principles and practice of radiation oncology / A. Carlos, W. Luther. — Philadelphia: J.B. Lippincott, 1992. — 1544 p.
274. Preirradiation chemotherapy including eight drugs in 1 day regimen and high-dose methotrexate in childhood medulloblastoma: results of the M7 French Cooperative Study / J.C. Gertel, E. Bouffet, F. Doz [et al.] // *J. Neurosurg.* — 1995. — Vol.82. — P.608–614.
275. Sawamura Y. Combined irradiation and chemotherapy using ifosfamide, cisplatin for children with medulloblastoma — results of a pilot study / Y.

- Sawamura, J. Ikeda // *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. — 1996. — Vol.36. — P.632–638.
276. Results of a prospective randomized trial comparing standard dose neuraxis irradiation (3,600 cGy/20) with reduced neuraxis irradiation (2,340 cGy/13) in patients with low-stage medulloblastoma. A Combined Children's Cancer Group–Pediatric Oncology Group Study / M. Deutsch, P.R. Thomos, J. Krischer [et al.] // *Pediatr. Neurosurg.* — 1996. — Vol.24. — P.167–167.
277. Tarbel N.L. The change in patterns of relaps in medulloblastoma / N.L. Tarbel, G.V. Jacobs // *Cancer*. — 1991. — Vol.68. — P.1500–1604.
278. Levin V.A. Chemotherapy of primary brain tumors / V.A. Levin // *Neurol. Clin.* — 1985. — Vol.3, N4. — P.855–866.
279. Packet R.J. Chemotherapy of childhood posterior fossa tumors / R.J. Packet, H.S. Nicholson, J. Ryan // *Posterior Fossa Tumors*; eds.: A.J. Raimondi, M. Choux, C. Di Rocco. — N.Y: Springer-Verlag, 1993. — P.169–188.
280. Preradiation chemotherapy of children and young adults with malignant brain tumors: results of the German Pilot trial HIT'88/89 / J. Kuhl, H.L. Muller, F. Berthold [et al.] // *Clin. Padiatr.* — 1998. — Vol.210, N4. — P.227–233.
281. Pre-irradiation chemotherapy in advanced medulloblastoma. A Pediatric Oncology Group Pilot Study / A.D. Mosijczuk, M.A. Nigra, P.R.M. Thomas [et al.] // *Cancer*. — 1993. — Vol.72. — P.2755–2762.
282. Поддубная И.В. Лекарственная терапия злокачественных опухолей (современное состояние и перспективы) / И.В. Поддубная // *Рус. мед. журн.* — 1998. — Т.6, №10. — С.621–627.
283. Бадмаев К.Н. Радионуклидная диагностика и лучевая терапия заболеваний нервной системы / К.Н. Бадмаев, Р.В. Смирнов. — М.: Медицина, 1987. — 272 с.
284. Бродская И.А. Клеточная дифференцировка медуллобластом мозжечка у детей / И.А. Бродская, Ю.А. Орлов // *Актуальные вопросы нейрохирургии детского возраста: респ. сб. науч. тр.* — Л., 1990. — С.67–70.

285. Wechsler–Reya R. The developmental biology of brain tumors / R. Wechsler–Reya, M. P. Scott // *Ann. Rev. Neurosci.* — 2001. — Vol.24. — P.385–428.
286. Семенова В.М. Лечебный патоморфоз глиом головного мозга / В.М. Семенова // *Глиомы головного мозга (современное состояние проблемы и пути дальнейших поисков)*; под ред. Ю.А. Зозули. — К.: Экспрес-Поліграф, 2007. — С.569–597.
287. Глиальная трансформация медуллобластом у детей на фоне полихимиотерапии (описание 2 случаев) / А.Г. Притыко, А.Г. Коршунов, Б.В. Холодов [и др.] // *Соврем. онкология.* — 2002. — Т.4, №2. — С.63.
288. Применение проточной цитометрии для оценки функциональй активности иммунной системы человека: пособие для врачей-лаборантов / Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин, А.В. Симонова [и др.]. — М., 2001. — 53 с.
289. Зозуля Ю.А. Современные возможности хирургического лечения глиом головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.Д. Розуменко, А.Я. Главацкий // *Глиомы головного мозга (современное состояние проблемы и пути дальнейших поисков)*; под ред. Ю.А. Зозули. — К.: Экспрес-Полиграф, 2007. — гл.9. — С.307–382.
290. Розуменко В.Д. Эпидемиология глиом и факторы риска их развития / В.Д. Розуменко, Ю.А. Орлов // *Глиомы головного мозга (современное состояние проблемы и пути дальнейших поисков)*; под ред. Ю.А. Зозули. — К.: Экспрес-Полиграф, 2007. — гл.2. — С.19–34.
291. Химиотерапевтический патоморфоз злокачественных опухолей / К.А. Галахин, О.Г. Югринов, Е.Г. Курик [и др.] // *Укр. хіміотерапевт. журн.* — 2000. — №4(8). — С.8–12.