

Состояние эндотелия капилляров перитуморальной зоны после адъювантной лучевой терапии глиобластомы головного мозга

А.С. Балканов¹, И.Д. Розанов¹, А.В. Голанов², Л.Е. Гаганов¹, В.П. Черников³

¹ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

² ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Н.Н. Бурденко Минздрава России, Москва, Россия

³ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

Введение. Несмотря на совершенствование методик лечения, выживаемость пациентов с глиобластомой (ГБ) головного мозга (ГМ) сохраняется на уровне 10–16 месяцев. В связи с этим тема изучения состояния вещества перитуморальной зоны головного мозга на момент развития рецидива ГБ весьма актуальна в рамках оптимизации выбора тактики лечения. Цель исследования – сравнительный анализ состояния эндотелиоцитов в сосудах вещества перитуморальной зоны (ПЗ) ГМ при ГБ до и после проведения адъювантной дистанционной лучевой терапии (аДЛТ) с использованием трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ).

Материалы и методы. Визуальная оценка состояния эндотелиоцитов в капиллярах сосудов вещества ПЗ ГМ до аДЛТ (1-я группа – 32 капилляра) и через 12–14 месяцев после нее (2-я группа – 75 капилляров) выполнена с использованием ТЭМ.

Результаты. В капиллярах вещества ПЗ ГМ из 2-й группы значительно чаще, чем в капиллярах 1-й группы (60% и 12,6% капилляров, соответственно, $p < 0,001$) наблюдался апоптоз эндотелиоцитов. В 4% и 1,4% капилляров из 2-й группы имели место гибель и тромбоз капилляров, соответственно. Важной находкой оказалось то, что только в 69,3% капилляров из 2-й группы обнаружено утолщение базальной мембраны (БМ), а в 26,9% из них выявлена также ее пикообразная деформация.

Заключение. Через 12–14 месяцев после аДЛТ в веществе ПЗ ГМ сохраняется ишемия, обусловленная апоптозом эндотелия капилляров, утолщением с пикообразной деформацией БМ. Обнаруженные признаки ревазуляризации вещества ПЗ ГМ после ранее проведенной аДЛТ дают основания считать возможным рассмотрение стереотаксической радиохирургии (СТРХ) в качестве метода лечения рецидива ГБ ГМ.

Ключевые слова: глиобластома головного мозга, перитуморальная зона, апоптоз эндотелиоцита, утолщение базальной мембраны, стереотаксическая радиохирургия, рецидив глиобластомы

Для корреспонденции: Андрей Сергеевич Балканов. E-mail: andreybalkanov@yandex.ru

Для цитирования: Балканов А.С., Розанов И.Д., Голанов А.В., Гаганов Л.Е., Черников В.П. Состояние эндотелия капилляров перитуморальной зоны после адъювантной лучевой терапии глиобластомы головного мозга. Клини. эксп. морфология. 2021;10(1):33–40. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.33-40.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Московского областного научно-исследовательского клинического института имени М.Ф. Владимирского (НИР № 68).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 10.11.2020. Получена после рецензирования 19.01.2021. Принята в печать 11.02.2021.

Endothelium changes of peritumoral zone capillaries after brain glioblastoma adjuvant radiation therapy

A.S. Balkanov¹, I.D. Rozanov¹, A.V. Golanov², L.E. Gaganov¹, V.P. Chernikov³

¹ M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russia

² N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

³ Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

Introduction. Despite the treatment methods' improvement, the brain glioblastoma (GB) patient survival remains at the level of 12–14 months. In this regard, it is very relevant to optimize the choice of the treatment of recurrent GB, including using stereotactic radiosurgery (SRS).

Materials and methods. Comparative analysis of the endothelial cells in the capillaries of blood vessels of the brain peritumoral zone (PZ) before (1 group – 32 capillaries) and 12 – 14 months after (2 group – 75 capillaries) adjuvant external radiation therapy (AERT) was performed using transmission electron microscopy (TEM).

Results. Apoptosis of endotheliocytes was observed in the capillaries of the brain PZ from 2 group much more often than from 1 group (60% and 12.6% of capillaries, respectively, $p < 0.001$). Capillary death and thrombosis occurred in 4% and 1.4% of 2 group capillaries. An important finding was that only 69.3% of capillaries from 2 group revealed thickening of the basement membrane (BM), and 26.9% of them also revealed its peak deformation.

Conclusion. 12–14 months after AERT, the brain PZ remains ischemic due to apoptosis of the capillary endothelium, thickening and peak deformation of the BM. The detected signs of revascularization of the brain PZ after previously performed AERT suggest that it is possible to consider SRS as a method of treatment for recurrent brain GB.

Keywords: brain glioblastoma, peritumoral zone, endotheliocyte apoptosis, thickening of the basement membrane, stereotactic radiosurgery, glioblastoma relapse

Corresponding author: Andrey S. Balkanov. E-mail: andreybalkanov@yandex.ru

For citation: Balkanov A.S., Rozanov I.D., Galanov A.V., Gaganov L.E., Chernikov V.P. Endothelium changes of peritumoral zone capillaries after brain glioblastoma adjuvant radiation therapy. Clin. exp. morphol. 2021;10(1):33–40. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.33-40 (In Russ.).

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (No. 68).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 10.11.2020. **Received in revised form** 19.01.2021. **Accepted** 11.02.2021.

Введение

Дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) является основным компонентом лечения наиболее распространенной злокачественной опухоли головного мозга (ГМ) – глиобластомы (ГБ) и применяется в адъювантном режиме (аДЛТ). Несмотря на последние достижения в технологиях выполнения хирургического вмешательства и аДЛТ, в том числе в сочетании с лекарственной терапией, продолжительность жизни пациентов с ГБ ГМ остается неудовлетворительной и составляет всего 10–16 месяцев [1].

Использование аДЛТ при ГБ ГМ не только вызывает гибель опухолевых клеток, формирующих резидуальное новообразование, но и обуславливает возникновение целого ряда ранних и поздних морфологических повреждений вещества перитуморальной зоны (ПЗ) ГМ, прежде всего в микроциркуляторном сегменте. К ранним признакам относят отек вещества ГМ, возникающий вследствие снижения экспрессии окклюдина в межэндотелиальных плотных контактах (ПК), сосудистую дилатацию и транзиторную атрофию глии. В группу поздних лучевых повреждений включают демиелинизацию аксонов и некроз клеток сосудистой стенки с последующей гибелью такого сосуда и формированием лучевого некроза (ЛН) вещества ГМ. Считается, что патогенез ЛН ГМ включает активацию ряда генов и цитокинов [2, 3] в ответ на повреждение сосудов ПЗ с последующей гипоксией белого вещества ГМ, сопровождающейся гиперэкспрессией *hypoxia inducible factor-1 alpha* (HIF-1 α). В свою очередь, HIF-1 α потенцирует экспрессию VEGF и CXCL12/CXCR4 в астроцитах и тем самым

способствует формированию и/или усилению отека, который усугубляет степень гипоксии [3], что значительно повышает риск ЛН ГМ.

Возникновение ранних лучевых повреждений вещества ГМ может сопровождаться только транзиторным нарушением сознания (сомноленция) и/или судорогами. Формирование ЛН вещества ГМ при применении конформной аДЛТ диагностируется у 3–24% пациентов и часто является причиной смерти больных [2, 4]. Вероятность возникновения ЛН возрастает при увеличении разовой или суммарной дозы облучения, при увеличении объема мишени, при повторном облучении, в случае сочетанного использования аДЛТ и стереотаксической радиохирургии (СТРХ) и при одновременном использовании аДЛТ и химиотерапии. Так, в случае использования СТРХ при ГБ ГМ у 68% пациентов выявляется ЛН [3].

В последнее время публикуется много работ, посвященных изучению ранних лучевых повреждений эндотелиоцитов в капиллярах ГБ и/или ПЗ ГМ. Так, в течение 8–48 часов после облучения обнаружены набухание эндотелия и сужение просвета капилляров ГБ [5], апоптоз 16% эндотелиоцитов в сосудах вещества ГМ [6, 7]. Через 8–18 недель после облучения также выявляется апоптоз эндотелия, основными признаками которого являются конденсация хроматина и цитоплазмы, пузырчатость плазмолеммы эндотелиоцитов в сосудах ПЗ вещества ГМ. Кроме того, отмечают утолщение базальной мембраны (БМ) капилляров [8]. Сегодня золотым стандартом диагностики апоптоза эндотелиоцитов считается трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ).

Несмотря на то, что сведения о характере поздних лучевых повреждений, имеющих место в сосудах вещества ПЗ ГМ через несколько месяцев после аДЛТ, смогли бы дать ответы на вопросы, связанные с лечением рецидива ГБ, морфологические исследования в этом направлении носят единичный характер [9]. Следствием этого, вероятно, считается, что проведение повторной ДЛТ (пДЛТ) является недостаточно эффективным средством лечения рецидива ГБ ГМ и предпочтение отдается резекции рецидива или использованию лекарственной терапии [10].

Материалы и методы

В группу интактных капилляров вещества ПЗ ГМ (1-я группа – до проведения аДЛТ) включены результаты исследования 32 капилляров, наличие которых установлено при морфологическом исследовании операционного материала, полученного в ходе резекции первично выявленной ГБ ГМ у четырех пациентов в возрасте 55–65 лет. После выполнения резекции ГБ осуществляли забор морфологического материала из трех зон стенки послеоперационного дефекта, располагающихся на расстоянии не менее 2 см друг от друга. Признаком вещества ПЗ считали присутствие в морфологических образцах неповрежденных миелиновых структур (аксонов). Во 2-ю группу включены результаты исследования 75 капилляров вещества ПЗ ГМ, полученных у пяти пациентов с рецидивом ГБ (возраст 50–61 год), у которых при лечении первично выявленной ГБ (12–14 месяцев назад) применялась аДЛТ (60 Гр / 2 Гр). Забор морфологического материала осуществляли в соответствии с принципами, которые использовались в 1-й группе.

Исследование капилляров выполнялось при помощи трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Материал фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,4), дофиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия, обезжировали в этаноле по общепринятой схеме, контрастировали 1% уранилацетатом на 70% этаноле в процессе обезжиривания и проводили заливку в смесь эпон–аралдит по стандартной методике. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III (LKB Produkter, Швеция), срезы дополнительно контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в просвечивающем электронном микроскопе Libra 120 (Zeiss, Германия).

В ходе проведения ТЭМ устанавливали наличие просвета капилляра, оценивали форму эндотелиоцита и его органелл – митохондрий, эндоплазматического ретикулума, межэндотелиальных плотных контактов (ПК) и БМ. Апоптоз эндотелиоцита диагностировали в случае выявления либо пузырчатости плазмолеммы эндотелиоцита, либо конденсации его ядерного хроматина – локализация хроматина вдоль ядерной плазмолеммы. Деструкцию ПК устанавливали в случае выявления выраженных полостей в его проекции.

Статистическую значимость выше обозначенных различий в сравниваемых группах оценивали с использованием непараметрических критериев – критерия χ^2 Пирсона и точного критерия Фишера. Статистически значимой разницей исследуемых показателей считалась при $p < 0,05$.

Результаты

Изучение состояния 32 капилляров вещества ПЗ из 1-й группы не установило наличия глубоких морфологических изменений сосудистой стенки, которые можно было бы расценить как гибель сосуда. Также в этой группе не выявлены капилляры с окклюзией просвета тромботическими массами. Признаки апоптоза эндотелиоцитов обнаружены в четырех капиллярах данной группы (12,6%): в эндотелиоцитах двух капилляров (50%) выявлена пузырчатость плазмолеммы, в эндотелиоцитах двух капилляров (50%) – конденсация хроматина. Следует отметить, что в эндотелиоцитах всех указанных выше четырех капилляров имелся лишь один признак апоптоза. Отек эндотелиоцитов диагностирован в двух капиллярах из 1-й группы (6,3%). Во всех случаях зафиксирован тотальный отек доступных для визуального осмотра эндотелиоцитов. Вакуолизация эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и набухание митохондрий имели место в эндотелиоцитах 11 капилляров (34,4%) и 26 (81,3%), соответственно. Расширение БМ установлено в шести из 32 капилляров (18,8%). Межэндотелиальные плотные соединения (ПК) визуализированы в эндотелии 21 капилляра из 1-й группы. Деструкция ПК диагностирована в двух из них (9,5%) (табл.).

Состояние эндотелиоцитов через 12–14 месяцев после проведения аДЛТ изучали в 75 капиллярах вещества ПЗ из 2-й группы (табл.). Существенным отличием от результатов исследования капилляров из 1-й группы явилось то, что в трех капиллярах (4%) из 2-й группы выявлены необратимые изменения всех клеточных элементов сосудистой стенки, в том числе в эндотелиоцитах, свидетельствующие о гибели сосуда. В одном капилляре (1,4%) также обнаружена полная окклюзия его просвета тромботическими массами. Во 2-й группе достоверно чаще ($p < 0,001$), чем в 1-й группе, устанавливались признаки апоптоза эндотелиоцитов – в 45 капиллярах (60,0%). Как и в 1-й группе, конденсация хроматина и пузырчатость плазмолеммы в эндотелиоцитах 2-й группы выявлялись с одинаковой частотой – в 51,1% и 62,2% капилляров, соответственно (рис. 1, 2). Однако в эндотелиоцитах семи капилляров (15,6%) из 2-й группы присутствовали оба указанных выше признака апоптоза. Отек эндотелиоцитов в капиллярах из 2-й группы наблюдали чаще, чем в капиллярах из 1-й группы, – в 17 капиллярах (22,7%) (рис. 3). Тем не менее при статистической обработке кратность выявления отека эндотелиоцитов в капиллярах из 1-й и 2-й групп достоверно не отличалась ($p = 0,079$). В 88,2% капилляров 2-й группы отек наблюдался только в отдельных эндотелиоцитах.

Сравнительный анализ состояния эндотелиоцитов в капиллярах вещества перитуморальной зоны до проведения аДЛТ и через 12–14 месяцев после нее |

Comparative analysis of the state of endotheliocytes in the capillaries of the peritumoral zone before and 12–14 months after aRT

Признаки Characteristics	До аДЛТ Before aRT, n (%)	После аДЛТ After aRT, n (%)	P
Гибель капилляра Capillary death	0 (0%)	3 (4%)	0,26
Апоптоз эндотелиоцита Endothelial cell apoptosis	4 (12,6%)	45 (60%)	<0,001
пузырчатость bubbliness	2 (50%)	28 (62,2%)	1,0
конденсация хроматина chromatin condensation	2 (50%)	23 (51,1%)	1,0
Отек эндотелиоцита Endotheliocyte swelling	2 (6,3%)	17 (22,7%)	0,079
тотальный total	2 (100%)	2 (11,8%)	0,12
отек отдельных эндотелиоцитов separate cells are swelled	0 (0%)	15 (88,2%)	0,49
Расширение ЭПР эндотелиоцита Extension of ESR endotheliocyte	11 (34,4%)	25 (34,7%)	0,94
Отек митохондрий эндотелиоцита Swelling of endothelial cell mitochondria	26 (81,3%)	37 (51,4%)	0,13
Утолщение БМ Thickening of BM	6 (18,8%)	52 (69,3%)	0,004
пикообразная деформация peak-shaped deformation	0 (0%)	14 (26,9%)	0,58
Всего капилляров Total capillaries	32 (100%)	75 (100%)	

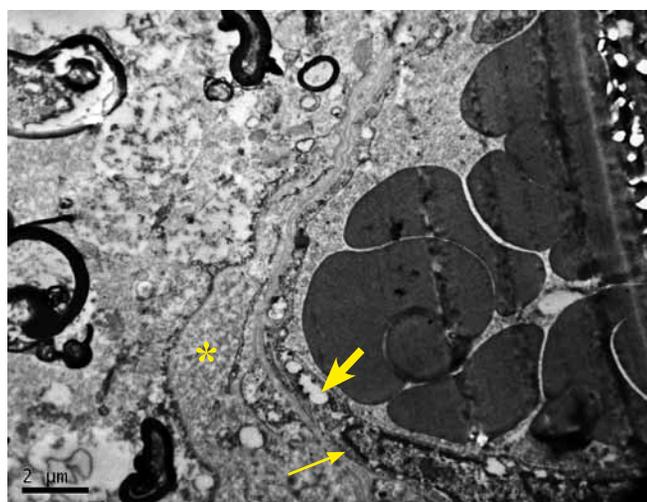


Рис. 1. Ультраструктура капилляра вещества ПЗ (2-я группа). Имеется расширение БМ преимущественно за счет набухания (*). Наблюдаются периферическая конденсация хроматина вдоль ядерной плазмолеммы (тонкая стрелка), набухание митохондрий (толстая стрелка). ТЭМ

Fig. 1. Ultrastructure of the peritumoral zone capillaries (group 2). There is an expansion of BM mainly due to swelling (*). There is peripheral condensation of chromatin along the nuclear plasmalemma (thin arrow), swelling of mitochondria (thick arrow). TEM

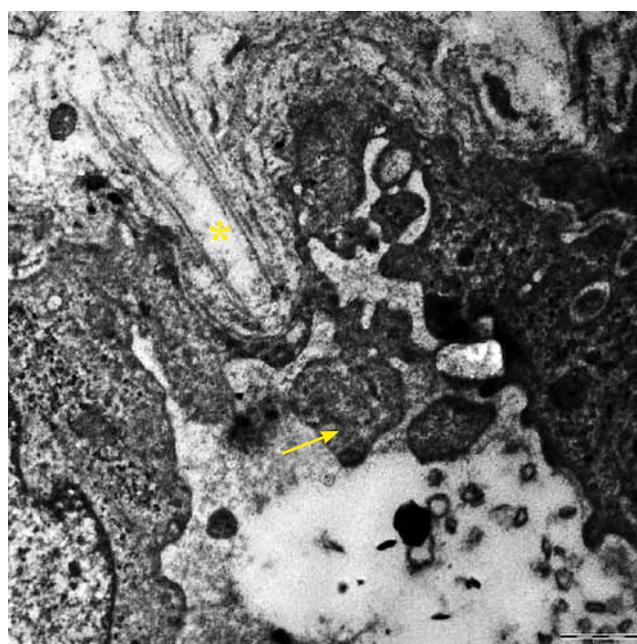


Рис. 2. Ультраструктура капилляра вещества ПЗ (2-я группа). Наблюдается расширение БМ. В границах БМ визуализируется пикообразная деформация БМ (*) в направлении просвета капилляра, включающая коллагеновые волокна. Наблюдается пузырчатость плазмолеммы эндотелиоцита (стрелка). ТЭМ

Fig. 2. Ultrastructure of the peritumoral zone capillaries (group 2). There is an expansion of the BM. Within the boundaries of the BM, a peak-shaped deformation of the BM (*) in the direction of the capillary lumen, including collagen fibers, is visualized. Bubbliness of endotheliocyte plasmalemma (arrow) is observed. TEM

Вакуолизации ЭПР (рис. 4) и набухание митохондрий (рис. 1) в эндотелиоцитах капилляров из 2-й группы выявлялись так же часто, как и в 1-й группе, – в 25 капиллярах (34,7%) и 37 капиллярах (51,4%), соответственно (табл.). Состояние ПК оценивали в 36 капиллярах из 2-й группы. Деструкция ПК (рис. 3) обнаруживалась чаще в капиллярах 2-й группы – в семи (19,4%). Однако при статистической обработке данных частота деструкции ПК в обеих группах оказалась сравнимой ($p=0,47$). Утолщение БМ, за счет набухания и редупликации коллагеновых волокон (рис. 1, 2), выявлялось значительно чаще ($p=0,004$) в капиллярах 2-й группы – в 52 (69,3%). В 14 капиллярах (26,9%) из 2-й группы наблюдалось не только утолщение БМ, но и увеличение ее длины, следствием чего стало появление пикообразной деформации БМ (рис. 2) в направлении просвета капилляра.

Обсуждение

Проведение аДЛТ при ГБ ГМ обеспечивает летальное повреждение клеток резидуальной опухолевой ткани и тем самым обуславливает значительное увеличение продолжительности жизни пациентов. К сожалению, при этом возникают и постлучевые изменения в капиллярах вещества ПЗ ГМ, приводящие к развитию ишемии и формированию в ряде случаев ЛН, который, в свою очередь, является одной из причин смерти таких пациентов. Так, при ТЭМ вещества ГМ через 3 месяца после облучения установлено, что имеют место выраженный гиалиноз стенки капилляров

(утолщение за счет набухания БМ и увеличения количества коллагеновых волокон), вакуолизация цитоплазмы, гипертрофия ядер эндотелиоцитов и снижение их числа. Многие авторы считают, что гибель сосудов ГМ в результате программируемой смерти эндотелиоцитов (апоптоза) – следствие облучения. Полагается, что описанные выше изменения являются причиной тромбоза капилляров. Наличие сходных изменений в капиллярах вещества ГМ через 6 месяцев после воздействия ионизирующей радиации [2, 6, 11] также указывает на крайне высокую вероятность развития ЛН. В связи с этим становится понятным, что в случае возникновения рецидива ГБ в эти сроки использование пДЛТ не представляется возможным. Вместе с тем важно отметить, что иногда достаточно сложно дифференцировать некоторые изменения структурных элементов микроциркуляторного русла в капиллярах вещества ПЗ ГМ в ответ на проведение аДЛТ, так как предполагается, например, что микровезикулярная секреция РНК клетками ГБ с последующей ее миграцией с кровотоком в ПЗ также приводит к отеку эндотелиоцитов и утолщению БМ [12–15].

Наши данные включают результаты исследования капилляров вещества ПЗ ГМ методом ТЭМ в более отдаленные сроки после аДЛТ – через 12–14 месяцев. В эти сроки апоптоз эндотелиоцитов диагностирован в 60% капилляров. В капиллярах вещества ПЗ ГМ из 1-й группы апоптоз эндотелиоцитов обнаруживался нами значительно реже. Факт выявления высокой степени апоптоза эндотелиоцитов в капиллярах ПЗ

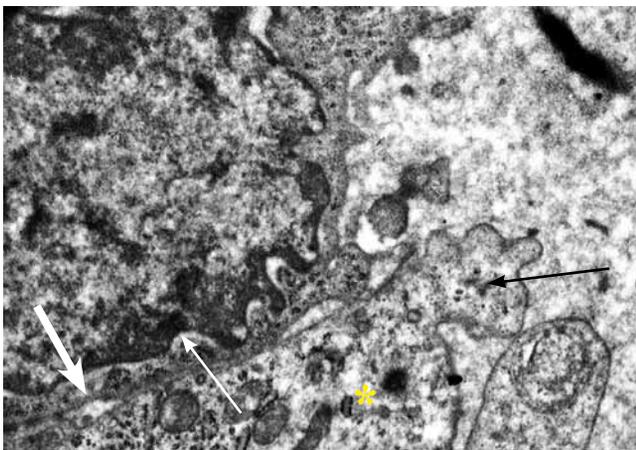


Рис. 3. Ультраструктура капилляра вещества ПЗ (2-я группа). Отек эндотелиоцита (*), пузырчатость (черная тонкая стрелка) плазмолеммы, ранняя стадия апоптоза эндотелиоцита (белая тонкая стрелка) и деструкция ПК (белая толстая стрелка). ТЭМ

Fig. 3. The ultrastructure of the peritumoral zone capillary (group 2). Endotheliocyte edema (*) with bubbliness (black thin arrow) of the plasmalemma, early stage endotheliocyte apoptosis (white thin arrow) and interendothelial tight contact destruction (white thick arrow). TEM

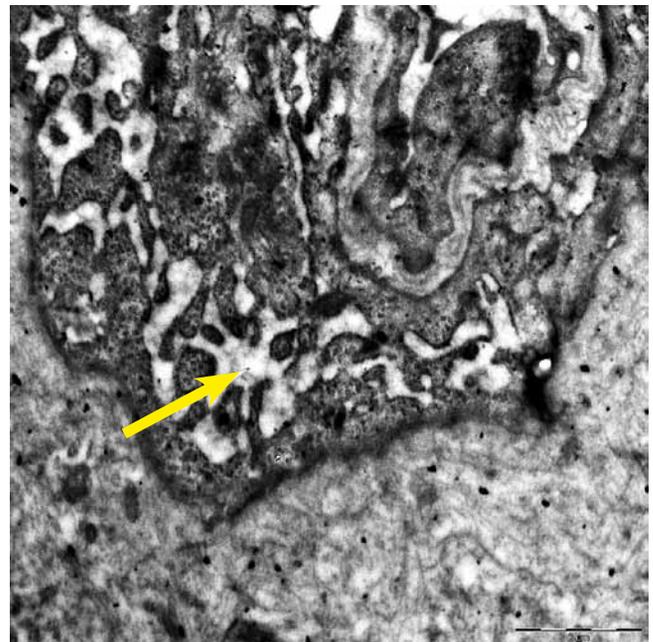


Рис. 4. Ультраструктура капилляра вещества ПЗ (2-я группа). Вакуолизация эндоплазматического ретикулума (стрелка). ТЭМ

Fig. 4. The ultrastructure of peritumoral zone capillary (group 2). Vacuolization of the endoplasmic reticulum is determined (arrow). TEM

вещества ГМ через 12–14 месяцев после проведения АДЛТ диктует необходимость тщательного анализа рисков развития ЛН в случае рассмотрения вопроса об использовании пДЛТ в качестве метода лечения рецидива ГБ. Мы считаем, что у таких пациентов выбор все-таки может быть сделан в пользу СТРХ, особенностями которой являются прецизионное облучение только самого рецидива ГБ и исключение из мишени вещества ПЗ ГМ, а значит, и поврежденных во время ранее проведенной АДЛТ капилляров. Так, некоторые авторы публикуют результаты применения СТРХ при рецидиве ГБ ГМ (после применения АДЛТ), где отмечают, что медиана выживаемости после СТРХ может составлять 10,6 месяца, а 1-летняя выживаемость – до 50% пациентов. Уже установлены некоторые позитивные предикторы продолжительности жизни после СТРХ, среди которых следует выделить прежде всего интервал времени после АДЛТ – более 20 месяцев. Не исключено, что позитивное влияние этого предиктора обусловлено существенной регрессией лучевых повреждений, в том числе апоптоза эндотелиоцитов в эти сроки после АДЛТ. Подтверждает данный факт то, что использование ингибитора VEGF (бивацизумаб), который в ряде случаев с успехом применяется при лечении лучевых повреждений вещества ГМ [3], оказывает существенное положительное влияние и на продолжительность жизни в случае его назначения при рецидиве ГБ ГМ в сочетании со СТРХ [16, 17].

Среди негативных предикторов применения СТРХ при рецидиве ГБ ГМ отмечают возраст (>50 лет) и объем рецидива ГБ [16, 17]. Каждый из двух этих предикторов также в определенной степени обусловлен состоянием микроциркуляторного русла вещества ПЗ. Так, известно, что возрастные изменения капилляров довольно часто похожи на лучевые повреждения, следовательно, могут схоже влиять на результат лечения рецидива ГБ. Что касается размеров рецидивирующей опухоли ГБ, то даже при использовании СТРХ в случае первичной ГБ ГМ больших размеров отмечается увеличение риска развития ЛН вещества ПЗ, так как в этой ситуации увеличивается доза облучения капилляров ПЗ, а значит, и степень их повреждения.

Выявление нами через 12–14 месяцев после АДЛТ в веществе ПЗ ГМ капилляров с признаками их гибели (4%) или тромбоза (1,4%) наравне с упоминавшимся выше апоптозом эндотелиоцитов лишний раз свидетельствует об уже имеющейся ишемии, которая может быть причиной как высокой радиорезистентности рецидива ГБ, так и неврологического дефицита (низкий индекс Карновского). Следует отметить, что, как известно, низкая выживаемость после СТРХ отмечается именно у пациентов с индексом Карновского <70% [16, 17]. Мы считаем, что факт наличия в ПЗ капилляров с признаками апоптоза эндотелиоцитов в стадии гибели или с явлениями тромбоза должен всегда рассматриваться при решении вопроса об алгоритме лечения рецидива ГБ ГМ с использованием пДЛТ.

Утолщение БМ вследствие повреждения гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) является одним из признаков лучевого патоморфоза в капиллярах вещества ПЗ после АДЛТ [2, 9] и включает ее вакуолизацию, набухание (отек) и образование новых коллагеновых волокон. Тем не менее следует заметить, что утолщение БМ в капиллярах ГМ – неспецифический признак и наблюдается также, например, при травмах ГМ. Степень утолщения БМ чаще всего прямо пропорциональна степени повреждения ГЭБ и величине отека вещества ГМ [12]. В своем исследовании мы обнаружили достоверное увеличение числа капилляров, в которых зафиксировано утолщение БМ в веществе ПЗ ГМ после АДЛТ (18,8% капилляров до АДЛТ; 69,5% капилляров после АДЛТ, $p=0,004$). Важно отметить, что в настоящем исследовании мы выявили не только утолщение БМ, но и увеличение ее протяженности, что обусловило возникновение пикообразных деформаций БМ в направлении просвета капилляра. Мы не обнаружили упоминаний о подобного рода изменениях БМ в других публикациях. Не исключаем, что пикообразные деформации можно рассматривать как визитную карточку воздействия ионизирующей радиации на капилляры вещества ГМ. Уточнение прогностической значимости указанных выше изменений БМ, в том числе с точки зрения их участия в патогенезе формирования зон ишемии в веществе ПЗ, станет предметом наших последующих исследований.

Не менее важным обстоятельством, установленным в ходе исследования, стало отсутствие утолщения БМ в 30% капилляров из 2-й группы. Ожидалось, что утолщение БМ, как следствие повреждения ГЭБ, будет обнаружено во всех капиллярах ПЗ после АДЛТ. Отсутствие утолщения БМ в указанных капиллярах с нашей точки зрения может являться признаком того, что такие сосуды не подвергались повреждающему воздействию радиации, а следовательно, они образовались уже после завершения АДЛТ. Другими словами, данный факт можно рассматривать как свидетельство реваскуляризации (образование новых капилляров) вещества ПЗ ГМ через 12–14 месяцев после завершения АДЛТ. В литературе показано наличие как минимум двух источников реваскуляризации – клетки миелоидного ряда (bone marrow-derived cells) и эндотелиоциты, сохранившие способность к ангиогенезу после облучения [18]. Например, опубликованы данные о том, что через 12 месяцев после ДЛТ в ряде эндотелиоцитов ПЗ обнаруживается митотическая активность [9, 7]. Результаты изучения состояния БМ методом ТЭМ представляют дополнительную возможность корректно оценить интенсивность реваскуляризации вещества ПЗ после АДЛТ и в последующем использовать полученные данные при решении вопроса о тактике лечения рецидива ГБ, в том числе с использованием пДЛТ [19].

ТЭМ также позволила установить довольно низкий процент капилляров вещества ПЗ, в которых выявляются повреждения трансэндотелиального (отек эндо-

телиоцита) и параэндотелиального (деструкция ПК) компонентов ГЭБ как до аДЛТ (6,3% и 9,5% капилляров), так и после нее (22,7 и 19,4% капилляров, соответственно). Однако установлены существенные отличия отека эндотелиоцитов в исследуемых группах. Так, до аДЛТ (1-я группа) наблюдался тотальный отек всех видимых эндотелиоцитов, но лишь в 6,5% капилляров. Во 2-й группе в 88,2% капилляров имел место отек, но только отдельных эндотелиоцитов. Приведенные факты подтверждают данные о том, что источником отека вещества ПЗ ГМ, как правило, являются капилляры опухоли, что само по себе всегда заставляет прежде всего исключать рецидив ГЭБ в случае визуализации лишь увеличения отека вещества ГМ в ложе ранее удаленной опухоли без явных признаков рецидива.

Электронномикроскопическое исследование состояния ЭПР и митохондрий эндотелиоцитов вещества ПЗ, которые мы оценивали по факту их вакуолизации, не установило существенных различий выраженности указанных выше признаков до аДЛТ и через 12–14 месяцев после нее. При этом не исключается, что повреждения в этих структурах имеются и могут быть обнаружены другими методами.

В заключение следует констатировать, что через 12–14 месяцев после аДЛТ при ГЭБ ГМ в веществе ПЗ сохраняется ишемия, обусловленная как апоптозом эндотелия капилляров, так и утолщением с пикообразной деформацией БМ. Обнаруженные признаки ревазуляризации вещества ПЗ ГМ после ранее проведенной аДЛТ дают основания считать возможным рассмотрение СТРХ в качестве метода лечения рецидива ГЭБ ГМ.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.С. Балканов, И.Д. Розанов.
Сбор и обработка материала – И.Д. Розанов, В.П. Черников.
Статистическая обработка данных – Л.Е. Гаганов.
Написание текста – И.Д. Розанов, А.С. Балканов.
Редактирование – А.В. Голанов, В.П. Черников.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.S. Balkanov, I.D. Rozanov.
Collected the data – I.D. Rozanov, V.P. Chernikov.
Performed the statistical analysis – L.E. Gaganov.
Wrote the paper – I.D. Rozanov, A.S. Balkanov.
Edited the manuscript – A.V. Golanov, V.P. Chernikov.

Литература/References

1. *Reitman ZJ, Winkler F, Elia AEH.* New directions in the treatment of glioblastoma. *Semin Neurol.* 2018;38(1):50–61. DOI: 10.1055/s-0038-1623534.
2. *Wong CS, Van der Kogel AJ.* Mechanisms of radiation injury to the central nervous system: implications for neuroprotection. *Mol Interv.* 2004;4(5):273–84. DOI: 10.1124/mi.4.5.7.
3. *Miyatake S, Nonoguchi N, Furuse M, Yoritsune E, Miyata T, Kawabata S et al.* Pathophysiology, diagnosis, and treatment of radiation necrosis in the brain. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2015;55(1):50–9. DOI: 10.2176/nmc.ra.2014-0188.
4. *Gilmore SA, Sims TJ.* Glial-glia and glial-neuronal interfaces in radiation-induced, glia-depleted spinal cord. *J Anat.* 1997;190(Pt. 1): 5–21. DOI: 10.1046/j.1469-7580.1997.19010005.x.
5. *Lund EL, Bastholm L, Kristjansen PE.* Therapeutic synergy of TNP-470 and ionizing radiation: effects on tumor growth, vessel morphology, and angiogenesis in human glioblastoma multiforme xenografts. *Clin Cancer Res.* 2000;6(3):971–8. PMID: 10741723.
6. *Peña LA, Fuks Z, Kolesnick RN.* Radiation-induced apoptosis of endothelial cells in the murine central nervous system: protection by fibroblast growth factor and sphingomyelinase deficiency. *Cancer Res.* 2000;60(2):321–7. PMID: 10667583.
7. *Cheng L, Ma L, Ren H, Zhao H, Pang Y, Wang Y et al.* Alterations in the expression of vascular endothelial growth factor in the rat brain. *Mol Med Rep.* 2014;10(5): 2263–70. DOI: 10.3892/mmr.2014.2520.
8. *Taatjes DJ, Sobel EB, Budd RC.* Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis. *Histochem Cell Biol.* 2008;129(1):33–43. DOI: 10.1007/s00418-007-0356-9.
9. *Schiffer D, Chiò A, Giordana MT, Mauro A, Migheli A, Soffietti R et al.* Vascular response to irradiation in malignant gliomas. *J Neurooncol.* 1990;8(1):73–84. DOI: 10.1007/BF00182090.
10. *Niyazi M, Siefert A, Schwarz SB, Ganswindt U, Kreth FW, Tonn JC et al.* Therapeutic options for recurrent malignant glioma. *Radiother Oncol.* 2011;98(1):1–14. DOI: 10.1016/j.radonc.2010.11.006.
11. *Burrell K, Hill RP, Zadeh G.* High-resolution in vivo analysis of normal brain response to cranial irradiation. *PLoS One.* 2012;7(6):e38366. DOI: 10.1371/journal.pone.0038366.
12. *Castejón OJ.* Ultrastructural alterations of human cortical capillary basement membrane in human brain oedema. *Folia Neuro-pathol.* 2014;52(1):10–21. DOI: 10.5114/fn.2014.41740.
13. *Li CC, Eaton SA, Young PE, Lee M, Shuttleworth R, Humphreys DT et al.* Glioma microvesicles carry selectively packaged coding and non-coding RNAs which alter gene expression in recipient cells. *RNA Biol.* 2013;10(8):1333–44. DOI: 10.4161/rna.25281.
14. *Liebner S, Fischmann A, Rascher G, Duffner F, Grote EH, Kalbacher H et al.* Claudin-1 and claudin-5 expression and tight junction morphology are altered in blood vessels of human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol.* 2000;100(3):323–31. DOI: 10.1007/s004010000180.
15. *Балканов А.С., Черников В.П., Голанов А.В.* Роль ультраструктурных изменений гематоэнцефалического барьера в развитии радиорезистентности глиобластомы головного мозга. *Альманах клинической медицины.* 2018;46(7):682–689. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-7-682-689.
Balkanov AS, Chernikov VP, Golanov AV. The role of ultrastructural abnormalities of the blood-brain barrier in the development of brain glioblastoma radioresistance. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(7):682–689 (In Russ.). DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-7-682-689.
16. *Cuneo KC, Vredenburgh JJ, Sampson JH, Reardon DA, Desjardins A, Peters KB et al.* Safety and efficacy of stereotactic radiosurgery and adjuvant bevacizumab in patients with recurrent malignant gliomas. *Oncol Biol Int J Radiat Phys.* 2012;82(5):2018-24. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2010.12.074.

17. *Imber BS, Kanungo I, Braunstein S, Barani IJ, Fogh SE, Nakamura JL et al.* Indications and efficacy of gamma knife stereotactic radiosurgery for recurrent glioblastoma: 2 decades of institutional experience. *Neurosurgery*. 2017;80(1):129–39. DOI: 10.1227/NEU.0000000000001344.
18. *Kozin SV, Duda DG, Munn LL, Jain RK.* Neovascularization after irradiation: what is the source of newly formed vessels in recurring tumors? *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(12):899–905. DOI: 10.1093/jnci/djs239.
19. *Jain R, Poisson LM, Gutman D, Scarpace L, Hwang SN, Holder CA et al.* Outcome prediction in patients with glioblastoma by using imaging, clinical, and genomic biomarkers: focus on the nonenhancing component of the tumor. *Radiology*. 2014;272(2):484–93. DOI: 10.1148/radiol.14131691.

Информация об авторах

Андрей Сергеевич Балканов – доктор медицинских наук, заведующий отделением радиотерапии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского.

Иван Дмитриевич Розанов – научный сотрудник отделения радиотерапии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского.

Андрей Владимирович Голанов – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением радиохирургии и радиотерапии НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко.

Леонид Евгеньевич Гаганов – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения патоморфологии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского.

Валерий Петрович Черников – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии клетки НИИ морфологии человека.

Author information

Andrey S. Balkanov – Dr. Sci. (Med.), Head of the Radiotherapy Department, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.
<https://orcid.org/0000-0002-1601-9780>

Ivan D. Rozanov – Researcher, Radiotherapy Department, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.
<https://orcid.org/0000-0002-8701-651X>

Andrey V. Golanov – Corresponding member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Radiosurgery and Radiotherapy, N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery.
<https://orcid.org/0000-0002-0976-4547>

Leonid E. Gaganov – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Pathomorphology, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute.
<https://orcid.org/0000-0002-5073-2774>

Valery P. Chernikov – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Experimental Cell Pathology, Research Institute of Human Morphology.
<https://orcid.org/0000-0002-3253-6729>