



Науменко Л.В.¹, Киселев П.Г.¹, Млечко В.С.¹, Красный С.А.¹, Жилиева Е.П.¹,
Жерко И.Ю.¹ ✉, Михалевская Т.М.², Сушня Г.А.³

¹ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

³ Минская областная детская клиническая больница, Минск, Беларусь

Морфологические изменения опухоли и центральной артерии сетчатки при лечении пациентов с ретинобластомой с использованием методов полихимиотерапии, суперселективной интраартериальной химиотерапии и брахитерапии

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: разработка концепции исследования, набор пациентов, написание текста – Науменко Л.В.; морфологическое исследование – Киселев П.Г., Михалевская Т.М.; набор пациентов – Млечко В.С., Жилиева Е.П., Сушня Г.А.; разработка концепции исследования, редактирование текста – Красный С.А.; набор пациентов, обработка данных, редактирование текста – Жерко И.Ю.

Подана: 06.10.2023

Принята: 13.11.2023

Контакты: zherko.irina@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Дать оценку морфологических изменений опухоли, центральной артерии сетчатки у пациентов с ретинобластомой, получивших полихимиотерапию, суперселективную интраартериальную химиотерапию и брахитерапию.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили клинические и патоморфологические данные одиннадцати пациентов с диагнозом «ретинобластома» (МКБ-10 C69.2). Использовались данные Белорусского канцер-регистра и истории болезни пациентов, которым на базе Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии проводилось обследование и лечение согласно стандартам, принятым в 2003 году: полихимиотерапия, брахитерапия, энуклеация и патогистологическое исследование. В Республиканском научно-практическом центре онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова проводились суперселективная интраартериальная химиотерапия (СИАХТ), пересмотр готовых препаратов для оценки состояния ЦАС. Гистологические препараты удаленных глазных яблок 11 пациентов с ретинобластомой были окрашены гематоксилином и эозином по стандартной методике. При световой микроскопии с помощью микроскопа Zeiss Axioskop 40 оценивались такие морфологические показатели, как выраженность некроза опухоли, наличие инвазии в орбиту или зрительный нерв, изменения ЦАС. Выраженность некроза оценивалась в баллах: 0–30% опухоли – 1 балл, 31–60% опухоли – 2 балла, более 60% – 3 балла.

Результаты. Гистологически опухоль представлена мелкими округлыми клетками со скудной цитоплазмой, образующими сплошные пласты, тяжи и гнезда. В ряде



случаев в опухоли выявлялись ритмические структуры типа розеток Флекснера – Винтерштейнера или Гомера Райта. Во всех изученных случаях в опухоли выявлены очаги некроза различной степени выраженности: в 2 из 11 – 1 балл, в 5 из 11 – 2 балла и в 4 из 11 – 3 балла. Дистрофические изменения в опухоли визуализировались в виде очагов кальциноза, отложений гемосидерина и скоплений макрофагов, что является проявлением терапевтического патоморфоза. Оценка состояния зрительного нерва и ЦНС проводилась в 7 из 11 случаев, поскольку в 5 случаях эти структуры не вошли в гистологические срезы глазного яблока. В 2 из 7 случаев выявлена инвазия опухоли в зрительный нерв. Во всех изученных случаях признаков инвазии опухоли в склеру не обнаружено. В одном случае была обнаружена сосудистая инвазия. В 7 из 11 (63,6%) случаев оценки CAS патологических изменений на светооптическом уровне не обнаружено. В 9 (81,8%) проанализированных случаях зафиксирована выраженность некроза опухоли от 31 до 60 баллов.

Выводы. Патоморфологические изменения после курсов терапии, включающих СИАХТ, характеризуются некрозом от 2 до 3 баллов в 88,8% случаев. Количество курсов СИАХТ (от 1 до 3) не влияет на анатомическую структуру центральной артерии сетчатки.

Ключевые слова: ретинобластома, суперселективная химиотерапия, лечение ретинобластомы, интраартериальное введение химиопрепарата, внутриартериальное введение мелфалана

Larisa V. Naumenko¹, Pavel G. Kiselev¹, Viacheslav S. Mlechko¹, Sergei A. Krasny¹, Katsiaryna P. Zhylyayeva¹, Iryna Y. Zherka¹ ✉, Taisia M. Mikhalevskaya², Galina A. Suschenia³

¹ N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

³ Minsk Regional Children's Clinical Hospital, Minsk, Belarus

Morphological Changes in the Tumor and Central Retinal Artery During the Treatment of Patients with Retinoblastoma Using Polychemotherapy, Superselective Intra-Arterial Chemotherapy and Brachytherapy

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: development of the study concept, recruitment of patients, writing the text – Naumenko L.; morphological study – Kiselev P., Mikhalevskaya T.; recruitment of patients – Mlechko V., Zhylyayeva E., Suschenia G.; development of the research concept, text editing – Krasny S.; patient recruitment, data processing, text editing – Zherka I.

Submitted: 06.10.2023

Accepted: 13.11.2023

Contacts: zherko.irina@mail.ru

Abstract

Purpose of the study. To assess the morphological changes in the tumor and the central retinal artery in patients with retinoblastoma who received polychemotherapy, superselective intra-arterial chemotherapy and brachytherapy.

Materials and methods. Eleven patients were diagnosed with retinoblastoma (ICD-10 C69.2). We used data from the Belarusian Cancer Registry and medical histories of patients who, at the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, were examined and treated according to the standards adopted in 2003: polychemotherapy (PCT) brachytherapy, enucleation and pathohistological examination. At the N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus carried out SIAC, a review of ready-made preparations to assess the condition of the central nervous system. Histological preparations stained with hematoxylin and eosin, 11 patients with retinoblastoma. Light microscopy using a Zeiss Axioskop 40 microscope assessed such morphological indicators as the severity of tumor necrosis, the presence of invasion into the orbit or optic nerve, changes in the central nervous system. The severity of necrosis was assessed in points: 0–30% of the tumor – 1 point, 31–60% of the tumor – 2 points, more than 60% – 3 points.

Results. Histologically, the tumor was represented by small round cells, with scant cytoplasm, forming solid layers, cords and nests. In some cases, rhythmic structures like Flexner-Wintersteiner or Homer Wright rosettes were identified in the tumor. In all studied cases, foci of necrosis of varying severity were detected in the tumor: in 2 out of 11 – 1 point, in 5 out of 11 – 2 points and in 4 out of 11 – 3 points. Dystrophic changes in the tumor were visualized in the form of foci of calcification, hemosiderin deposits and accumulations of macrophages, which are manifestations of therapeutic pathomorphosis. Assessment of the condition of the optic nerve and central nervous system was carried out in 7 out of 11 cases, because in 5 cases, these structures were not included in the histological sections of the eyeball. In 2 of 7 cases, tumor invasion into the optic nerve was detected. In all studied cases, no signs of tumor invasion into the sclera were found. In one case, vascular invasion was detected. In 7 out of 11 (63.6%) cases of CAS assessment, no pathological changes at the light-optical level were found. In 9 (81.8%) analyzed cases, the severity of tumor necrosis was recorded from 31 to 60 points.

Conclusions. Pathomorphological changes after courses of therapy including SIAHT are characterized by necrosis from 2 to 3 points in 88.8% of cases. The number of SIAC courses (from 1 to 3) does not affect the anatomical structure of the central retinal artery.

Keywords: retinoblastoma, superselective chemotherapy, treatment of retinoblastoma, intra-arterial administration of a chemotherapy drug, intra-arterial administration of melphalan

■ ВВЕДЕНИЕ

Ретинобластома относится к одной из врожденных опухолей детского возраста [1]. Отмечается рост заболеваемости как во всем мире, так и в Республике Беларусь. По данным литературы, в настоящее время заболеваемость составляет 1 случай на 15 000–20 000 новорожденных детей и это заболевание относится к наиболее распространенной опухоли сетчатки у детей. На долю ретинобластомы приходится около 11% случаев заболевания в течение первого года жизни ребенка [2–4]. Лечение ретинобластомы у детей все еще остается неразрешимой и сложной задачей, так как требует не только системного, но и персонализированного подхода к данной категории пациентов. Остаются открытыми вопросы, касающиеся изменений центральной



артерии сетчатки после введения химиопрепаратов (от 3 до 5 курсов) [5]. Остаются нерешенными вопросы совершенствования рентгенихирургической техники, скорости инфузии лекарственного средства с учетом анатомических особенностей строения сосудистой сети глазного яблока каждого ребенка и изменений в оболочках глазного яблока, которые происходят при проведении суперселективной интраартериальной химиотерапии (СИАХТ) [4, 6, 7].

Для понимания возможностей СИАХТ при ретинобластоме необходимо учитывать кровотоки в оболочках глазного яблока.

К основной магистрали, кровоснабжающей глазное яблоко, относится ветвь внутренней сонной артерии – глазная артерия. Это парная артерия. Глазная артерия отходит от внутренней сонной артерии в полости черепа под тупым углом и тут же входит в глазницу через зрительное отверстие вместе со зрительным нервом, прилегая к его нижней поверхности. Огибая зрительный нерв с наружной стороны и располагаясь на его верхней поверхности, глазная артерия образует дугу, от которой отходят ее ветви: центральная артерия сетчатки, слезная артерия, мышечные ветви, цилиарные артерии (задние и передние, длинные и короткие). Центральная артерия сетчатки, являясь первой ветвью глазной артерии после ее ответвления от внутренней сонной артерии, проникает в ретробульбарную часть зрительного нерва на расстоянии 1,2 см от глазного яблока и делится на верхнюю и нижнюю ретинальные артерии на уровне диска зрительного нерва. Ретинальные артерии делятся на назальные и темпоральные ветви. Ветви ЦАС проникают через внутреннюю пограничную мембрану к внутреннему ядерному слою сетчатки, формируя систему ретинального кровоснабжения, которая питает 2/3 внутренних слоев сетчатки. Важной особенностью кровотока в глазном яблоке является независимость вышеописанной системы от хориоидальной. Ретинальные сосуды подвержены большой разнице давлений, и изменение в их сопротивлении за счет разницы внутреннего диаметра играет одну из важных ролей в регуляции кровотока в сетчатке.

По данным селективной ангиографии артериальное кровоснабжение глаз у детей раннего возраста имеет переменный характер и осуществляется за счет глазной артерии в 64,8% случаев, за счет конкурентного кровотока из альтернативных источников – в 16,1%. Диагностическая ангиография в 1,7% случаев не позволяет установить единственный источник кровоснабжения глаза за счет наличия рассыпного типа кровоснабжения из мелких ветвей [5].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дать оценку морфологических изменений опухоли и центральной артерии сетчатки у пациентов с ретинобластомой, получивших полихимиотерапию, суперселективную интраартериальную химиотерапию и брахитерапию.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили клинические и патоморфологические данные одиннадцати пациентов с диагнозом «ретинобластома» (МКБ-10 C69.2). Использовались данные Белорусского канцер-регистра и истории болезни пациентов, которым на базе государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» проводилось обследование и лечение согласно стандартам, принятым в 2003 году: полихимиотерапия

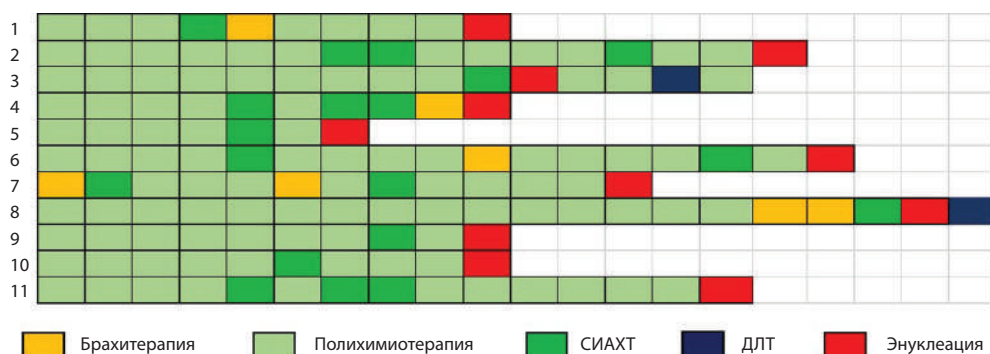


Рис. 1. Методы проведенного лечения 11 пациентов
Fig. 1. Treatment methods for 11 patients

и консолидирующие методы лечения, энуклеация и патогистологическое исследование. В Республиканском научно-практическом центре онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова проводились СИАХТ по модифицированному методу [7], пересмотр готовых гистологических препаратов для оценки состояния ЦАС. На рис. 1 представлены методы лечения пациентов с ретинобластомой до проведения энуклеации.

Гистологические препараты удаленных глазных яблок 11 пациентов с ретинобластомой были окрашены гематоксилином и эозином по стандартной методике. При световой микроскопии с помощью микроскопа Zeiss Axioskop 40 оценивались такие морфологические показатели, как выраженность некроза опухоли, наличие инвазии в стенку орбиты или глазной нерв, изменения центральной артерии сетчатки. Выраженность некроза оценивалась в баллах: 0–30% опухоли – 1 балл, 31–60% опухоли – 2 балла, более 60% – 3 балла.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Проанализировано 11 морфологических препаратов удаленных глазных яблок после проведенных курсов полихимиотерапии (ПХТ), СИАХТ и брахитерапии. Глазные яблоки были удалены в связи с отсутствием перспектив для дальнейшего проведения органосохраняющего лечения. Всем пациентам проводилась ПХТ на первом этапе лечения, только у одного пациента в связи с распространенностью опухоли была возможность провести БТ. Курсов ПХТ проведено от 5 до 11. Всем пациентам проведена СИАХТ от 1 до 3 курсов, БТ выполнена 4 пациентам, причем 2 из них двукратно в связи с новыми отсевами опухоли. В связи с распространением опухоли в зрительный нерв дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) использована у 2 пациентов после проведенной энуклеации и полученного морфологического заключения.

При морфологическом исследовании гистологически опухоль была представлена мелкими округлыми клетками со скудной цитоплазмой, формирующими солидные пласты, тяжи и гнезда. В части случаев в опухоли определялись ритмичные структуры по типу розеток Флекснера – Винтерштейнера или Гомера Райта. Во всех исследованных случаях в опухоли определялись очаги некроза различной степени

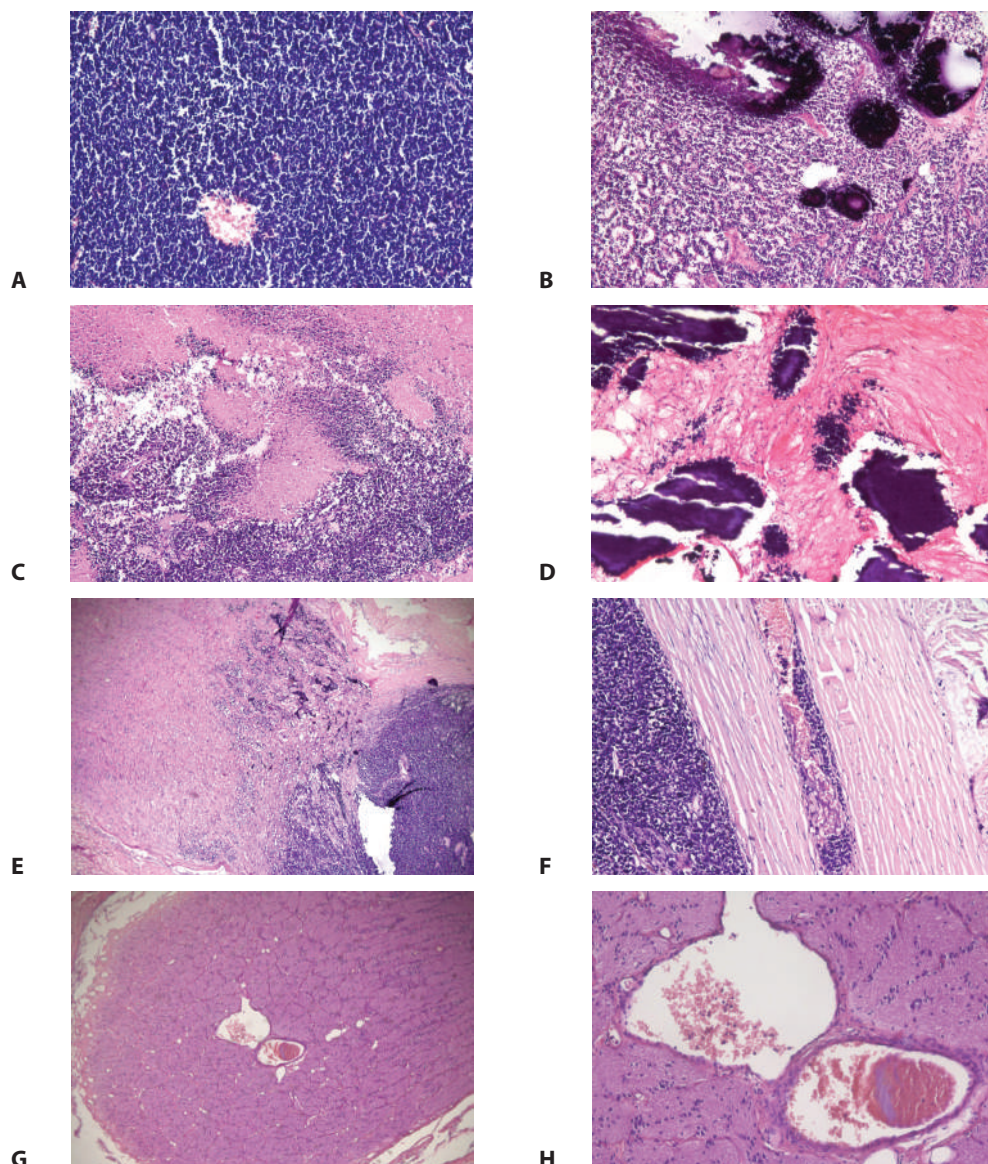


Рис. 2. Морфологическая картина ретинобластомы, зрительного нерва и центральной артерии сетчатки после проведенного лечения. Окраска гематоксилином и эозином: А – гистологическая картина ретинобластомы, солидные участки строения, $\times 100$; В – розетки Флекснера – Винтерштейнера, $\times 100$; С – очаги некроза опухоли, $\times 100$; D – некрозы и кальцинаты на месте погибшей опухоли, $\times 100$; E – инвазия опухоли в зрительный нерв, $\times 100$; F – инвазия в сосуды стенки орбиты, $\times 200$; G, H – артерия и вена, пенетрирующие зрительный нерв, $\times 100$, $\times 200$
Fig. 2. Morphological picture of retinoblastoma, optic nerve and central retinal artery after treatment. Hematoxylin and eosin staining: A – histological picture of retinoblastoma, solid areas of the structure, $\times 100$; B – Flexner-Wintersteiner sockets, $\times 100$; C – foci of tumor necrosis, $\times 100$; D – necrosis and calcifications at the site of the dead tumor, $\times 100$; E – tumor invasion into the optic nerve, $\times 100$; F – invasion into the vessels of the orbital wall, $\times 200$; G, H – artery and vein penetrating the optic nerve, $\times 100$, $\times 200$

выраженности: в 2 из 11 препаратов – 1 балл, в 5 из 11 – 2 балла и в 4 из 11 – 3 балла. Кроме некроза визуализировались дистрофические изменения опухоли в виде очагов обызвествления, отложений гемосидерина и скоплений макрофагов, которые были проявлениями патоморфоза после проведенного лечения.

Достоверная оценка состояния зрительного нерва и центральной артерии сетчатки была возможна в 7 из 11 исследованных препаратов (рис. 2). Во всех случаях структура слоев центральной артерии сетчатки не была изменена на светооптическом уровне, включая пациентов, которым было проведено от 2 до 3 курсов СИАХТ.

В 5 случаях структуры артерии не попали в гистологические срезы зрительного нерва. В 2 из 7 случаев исследуемых микропрепаратов выявлена инвазия опухоли в зрительный нерв, что является неблагоприятным прогностическим признаком. У всех пациентов, включенных в исследование, не обнаружено признаков инвазии опухоли в склеру и ткани орбиты. В одном микропрепарате выявлена инвазия опухоли в сосудистую оболочку глазного яблока.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Использование других методов лечения ретинобластомы после проведения СИАХТ и между курсами СИАХТ затрудняет оценку состояния оболочек глазного яблока и принятие решения о применении одного из органосохраняющих методов. У некоторых пациентов СИАХТ приводит к развитию таких осложнений, как отслойка сетчатки, кровоизлияние в оболочки глазного яблока, отек зрительного нерва, и, как следствие, к снижению визуализации опухолевого очага. По данным Т.М. Ушаковой, трехкомпонентная СИАХТ эффективна и безопасна для пациентов с рефрактерной и рецидивной ретинобластомой, о чем свидетельствуют высокий процент сохраненных глаз и наличие зрительных функций от светоощущения до предметного зрения с сохранением 10 (71,4%) из 14 глазных яблок [8]. Абрамсон Д.Х. с соавт. первыми сообщили об одновременном двустороннем лечении ретинобластомы с использованием СИАХТ и назвали эту технику «тандемной терапией» [9]. Мелфалан у пациентов вызывает цитопению при общей дозе, превышающей 0,4 мг/кг. В тяжелых случаях доза 0,4 мг/кг используется для лечения одного глаза [10, 11]. При «тандемной терапии» авторы предлагают лечить один глаз мелфаланом (не более 0,4 мг/кг), а другой глаз – карбоплатином. Карбоплатин эффективен при системном применении [12–15] и параокулярно [16–18] или внутриартериально. Топотекан с мелфаланом и карбоплатином применяются в «тандемной терапии» [19–21]. David H. Abramson с соавт. представили количество курсов СИАХТ. Наиболее часто использовалось трехкратное введение мелфалана, хотя количество курсов у некоторых пациентов доходило до 8. Использование «тандемной терапии» ограничивалось тремя курсами, и в некоторых случаях использовали 6 введений. Всего было пролечено 120 глаз, проведено 418 сеансов СИАХТ, при этом общее количество сеансов у пациентов варьировало от 1 до 11 (в среднем 3,46 на пациента) [22].

Изучается воздействие химиопрепаратов на сетчатку. Например, Daniela Süsskind с соавт. провели морфологический мониторинг и анализ прямого токсического действия мелфалана и двух других цитостатиков на клетки ARPE19. Таким образом, прямой токсический эффект мелфалана *in vivo* после лечения на ретинальный пигментный эпителий (РПЭ) вероятен и может объяснить клинические и ангиографические изменения РПЭ, наблюдаемые у некоторых пациентов с ретинобластомой [23].



Исследований на предмет влияния химиопрепаратов при проведении СИАХТ на состояние центральной артерии сетчатки в литературе не описывается.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение курсов лечения, включающих полихимиотерапию, суперселективную интраартериальную химиотерапию и брахитерапию ретинобластомы, характеризуется выраженными патоморфологическими изменениями опухолевой ткани: наличием некрозов выраженностью от 2 до 3 баллов в большинстве (88,8%) исследованных случаев. При проведении от 1 до 3 курсов суперселективной интраартериальной химиотерапии анатомическая структура центральной артерии сетчатки не изменяется.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Saakyan S.V. *Retinoblastoma (Clinic, Diagnosis and Treatment)*. M.: Medicina. 2005; 199 p. (in Russian)
2. Ushakova T.L. A new era of organ-preserving treatment of children with intraocular retinoblastoma in Russia: a multicenter cohort study. *Onkopediatriya*. 2018;5(1):51–69. doi: 10.15690/onco.v5i1.1866. (in Russian)
3. Makarevich O.O., Konoplya N.E., Kochubinskiy D.V. Retinoblastoma in the Republic of Belarus: clinical and epidemiological analysis over a 22-year period. *Zdravoohranenie*. 2020;5:65–72. (in Russian)
4. Yamane T., Kaneko A., Mohri M. The technique of ophthalmic arterial infusion therapy for patients with intraocular retinoblastoma. *Int. J. Clin. Oncol.* 2004;9(2):69–73. doi: 10.1007/s10147-004-0392-6
5. Pogrebnyakov I.V. *Selective intra-arterial chemotherapy in the treatment of children with intraocular retinoblastoma* (PhD Thesis). M. 2018; 133 p. (in Russian)
6. Ismailova Dzh.M. *Morphometric characteristics of the ocular fundus as criteria for the choice of treatment tactics for retinoblastoma* (PhD Thesis). M. 2021; 112 p. (in Russian)
7. Mlechko V.S. Methodology of ocular artery catheterisation during superselective intra-arterial hemotherapy in patients with retinoblastoma. *Onkolog. zhurn.* 2023;16(1):21–28. (in Russian)
8. Ushakova T.L. Role of three-component selective intra-arterial chemotherapy in failures of standard organ-preserving treatment of children with intraocular retinoblastoma. *Ros. zhurn. detskoy gematologii i onkologii*. 2020;7(4):15–24. Available at: <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2020-7-4-15-34>. (in Russian)
9. Abramson D.H. Bilateral superselective ophthalmic artery chemotherapy for bilateral retinoblastoma: tandem therapy. *Arch. Ophthalmol.* 2010;128(3):370–372. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.7
10. Abramson D.H. Intraarterial chemotherapy for kissing macula tumors in retinoblastoma. *Retin. Cases Brief. Rep.* 2012;6(2):209–211. doi: 10.1097/ICB.0b013e318234ccf4
11. Abramson D.H. Ophthalmic artery chemosurgery for less advanced intraocular retinoblastoma: five year review. *PLoS One*. 2012;7(4):e34120. doi: 10.1371/journal.pone.0034120
12. Murphree A.L. Chemotherapy plus local treatment in the management of intraocular retinoblastoma. *Arch. Ophthalmol.* 1996;114(11):1348–1356. doi: 10.1001/archophth.1996.01100140548005
13. Allen S. Comparison of two methods for carboplatin dosing in children with retinoblastoma. *Pediatr. Blood Cancer*. 2010;55(1):47–54. doi: 10.1002/pbc.22467
14. Shields C.L. Chemoreduction in the initial management of intraocular retinoblastoma. *Arch. Ophthalmol.* 1996;114(11):1330–1338. doi: 10.1001/archophth.1996.01100140530002
15. Dunkel I.J. A phase II trial of carboplatin for intraocular retinoblastoma. *Pediatr. Blood Cancer*. 2007;49(5):643–648. doi: 10.1002/pbc.21163
16. Abramson D.H., Frank C.M., Dunkel I.J. A phase I/II study of subconjunctival carboplatin for intraocular retinoblastoma. *Ophthalmology*. 1999;106(10):1947–1950. doi: 10.1016/S0161-6420(99)90406-2
17. Van Quill K.R. Subconjunctival carboplatin in fibrin sealant in the treatment of transgenic murine retinoblastoma. *Ophthalmology*. 2005;112(6):1151–1158. doi: 10.1016/j.optha.2004.11.060
18. Marr B.P. Triple intra-arterial chemotherapy with simultaneous use of carboplatin, topotecan and melphalan for intraocular retinoblastoma: preliminary results. *Br. J. Ophthalmol.* 2012;96(10):1300–1303. doi: 10.1136/bjophthalmol-2012-301925
19. Chantada G.L. A phase I study of periorbital topotecan in children with intraocular retinoblastoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009;50(4):1492–1496. doi: 10.1167/iovs.08-2737
20. Carcaboso A.M. Episcleral implants for topotecan delivery to the posterior segment of the eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010;51(4):2126–2134. doi: 10.1167/iovs.09-4050
21. Schaiquevich P. Ocular pharmacology of topotecan and its activity in retinoblastoma. *Retina*. 2014;34(9):1719–1727. doi: 10.1097/IAE.0000000000000253
22. Abramson D.H. Simultaneous bilateral ophthalmic artery chemosurgery for bilateral retinoblastoma (tandem therapy). *PLoS One*. 2016;11(6):e0156806. doi: 10.1371/journal.pone.0156806
23. Süßkind D. Toxic effects of melphalan, topotecan and carboplatin on retinal pigment epithelial cells. *Acta Ophthalmol.* 2016;94(5):471–478. doi: 10.1111/aos.12990