

ПРИМЕНЕНИЕ ДИФфуЗИОННО-ТЕНЗОРНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ОТВЕТА НА СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЕ РАДИОХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.С. Токарев, к. м. н., врач-нейрохирург, заведующий отделением «Центр радиохирургии»;
В.Н. Степанов, врач-рентгенолог;
В.А. Рак, врач-нейрохирург

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского
Департамента здравоохранения города Москвы»,
Большая Сухаревская пл., 3, Москва, 129010, Российская Федерация

ASSESSMENT OF METASTATIC BRAIN TUMORS RESPONSE TO STEREOTACTIC RADIOSURGERY WITH DIFFUSION TENSOR IMAGING

A.S. Tokarev, MD, PhD, Neurosurgeon, Head of Radiosurgery Department;
V.N. Stepanov, Radiologist;
V.A. Rak, Neurosurgeon

Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow Health Department,
Bol'shaya Sukharevskaya ploshchad', 3, Moscow, 129010, Russian Federation

Одним из основных методов лечения множественного метастатического поражения головного мозга является лучевая терапия и такая ее современная разновидность, как стереотаксическое радиохирургическое лечение (СРХ). Применение СРХ у пациентов с метастатическим поражением головного мозга позволяет добиться локального контроля в 73–98% случаев (в зависимости от гистологического строения метастаза). Важнейшей задачей послеоперационного периода является оценка ответа опухоли на проведенное лечение и дифференцирование продолженного роста от лучевого некроза. В статье представлен клинический случай, демонстрирующий первый опыт использования диффузионно-тензорной магнитно-резонансной томографии для решения этой задачи.

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография; диффузионно-тензорные изображения; трактография; диффузия; гамма-нож; стереотаксическое радиохирургическое лечение; метастазы.

Для цитирования: Токарев А.С., Степанов В.Н., Рак В.А. Применение диффузионно-тензорных изображений для оценки ответа на стереотаксическое радиохирургическое лечение метастатического поражения головного мозга. *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2017; 98 (4): 197–203. DOI: 10.20862/0042-4676-2017-98-4-197-203

Для корреспонденции: Степанов Валентин Николаевич;
E-mail: mail@rssklif.ru

Metastatic brain tumors – one of the most actual problems of neurooncology. Currently, whole brain radiotherapy and stereotactic radiosurgery are the main treatment methods of this pathology. The assessment of tumor's response to irradiation is very important issue in postoperative period. We attempted solve it by using diffusion tensor imaging.

Index terms: magnetic resonance imaging; diffusion tensor imaging; tractography; diffusion; gamma-knife; stereotactic radiosurgery; metastases.

For citation: Tokarev A.S., Stepanov V.N., Rak V.A. Assessment of metastatic brain tumors response to stereotactic radiosurgery with diffusion tensor imaging. *Vestnik Rentgenologii i Radiologii (Russian Journal of Radiology)*. 2017; 98 (4): 197–203 (in Russ.). DOI: 10.20862/0042-4676-2017-98-4-197-203

For correspondence: Valentin N. Stepanov; E-mail: mail@rssklif.ru

Information about authors:

Tokarev A.S., orcid.org/0000-0002-8196-0518
Stepanov V.N., orcid.org/0000-0003-0007-8054
Rak V.A., orcid.org/0000-0002-4534-8719

Acknowledgements. The study had no sponsorship.

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

Received June 14, 2017

Accepted August 7, 2017

Введение

Метастатическое поражение головного мозга встречается у 9–17% взрослых пациентов с верифицированными онкологическими заболеваниями и приводит к снижению продолжительности и качества жизни [2].

К методам лечения таких больных относят хирургическое удаление, чаще всего применяемое при солитарных метастазах, и лучевую терапию, являющуюся методом выбора при множественном поражении [3]. Эти методы могут использоваться как

изолированно, так и в комбинации с химиотерапией. Основными видами лучевой терапии, применяемыми для лечения пациентов с множественными метастазами головного мозга, в настоящее время являются: облучение всего головного мозга

(ОВГМ) и стереотаксическое радиохирургическое лечение (СРХ). Первая методика, используемая на протяжении уже нескольких десятилетий, характеризуется большим количеством побочных эффектов, наиболее грозное из которых – выраженное нарушение когнитивных функций в течение 1–6 мес после облучения [4]. Это связано с лучевым повреждением большого объема вещества головного мозга ввиду низкой точности воздействия, что приводит к прогрессирующему нарушению нейрональных связей. В отличие от ОВГМ при СРХ воздействие осуществляется только на патологический очаг, что позволяет существенно снизить количество осложнений [1].

Одна из основных проблем, возникающих после проведения лучевой терапии, – ранняя оценка ответа опухоли и последующий динамический контроль, нацеленный на выявление продолженного роста. Методом выбора для этого служит магнитно-резонансная томография (МРТ) с внутривенным контрастным усилением, позволяющая оценить морфологические свойства объемного образования [5]. Однако есть факторы, существенно затрудняющие оценку этих изменений посредством стандартной МРТ, к ним относятся сложная гистологическая организация опухоли, приводящая к гетерогенному ответу на лучевую терапию, а также лучевое повреждение окружающих тканей с нарушением гематоэнцефалического барьера и накоплением в них контрастного препарата, что может ошибочно расцениваться как продолженный рост. В такой ситуации возникает необходимость использования позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ), позволяющей определить наличие метаболизма в патологическом образовании. Метод обладает высокой чувствительностью по сравнению со стандартной МРТ, однако не всегда существует возможность его выполнения [6, 7].

Причины этого – высокая стоимость исследования и сравнительно небольшое количество томографов, на которых можно провести исследование со специфическими радиофармпрепаратами, применяемыми в нейрорadiологии (^{11}C -метионин, ^{11}C - и ^{18}F -холин, ^{18}F -тирозин). В таком случае дополнительными источниками информации могут являться функциональные методики МРТ – диффузионно-тензорная МРТ (ДТИ), спектроскопия и т. п. [8–12]. Они сравнительно недороги, не требуют введения экзогенного контрастного препарата, могут быть воспроизведены многократно в течение короткого временного промежутка.

Описание метода

Диффузионно-тензорная МРТ – метод, чувствительный к направленному движению молекул воды, возникающему вследствие диффузии. В веществе головного мозга диффузия носит организованный характер и ориентирована в пространстве в соответствии с ходом волокон белого вещества. При сборе данных происходит многократное последовательное сканирование головного мозга в диффузионном режиме с применением диффузионных градиентов, ориентированных в разных направлениях. В результате получают посрезовые изображения головного мозга, каждый воксель (единица трехмерного изображения) такого среза содержит суммарную информацию о направлении диффузии молекул жидкости и ее амплитуде, называемую диффузионным тензором [13]. Последующий анализ основан на качественной и количественной оценке показателей направленной диффузии. Основными количественными характеристиками диффузии являются: усредненный показатель диффузии (MD – mean diffusion), отражающий амплитуду диффузии, и фракционная (частичная) анизотропия (FA – fractional

anisotropy), которая отражает степень упорядоченности диффузии.

Качественная оценка проводится при анализе цветовых карт, отражающих направление диффузии молекул жидкости, а также при построении трехмерной модели проводящих путей – трактографии. При этом можно определить их взаимоотношение с патологическим образованием: смещение за счет объемного воздействия, вовлечение в зону отека и разрушение. Стоит отметить, что у метода существует ряд ограничений, приводящих к большому количеству ложных результатов, что снижает его достоверность [14–16].

В первую очередь к таким ограничениям относится то, что построенные модели не являются изображением нервных волокон, а только косвенно отражают диффузию, обусловленную фибриллярной структурой белого вещества. Поэтому нарушение целостности проводящих путей по данным 3D-модели не всегда соответствует истинному повреждению нервных волокон.

Другим недостатком является то, что метод операторозависимый, и результаты могут сильно отличаться при выполнении построений разными специалистами. Это обусловлено тем, что построение модели проводящих путей чаще всего осуществляется «вручную», путем установки исследователем точки или области интереса, далее происходит отображение одного или группы трактов, проходящих через эту область. От локализации этой точки будут зависеть длина отображенного тракта и количество волокон в группе трактов, которые могут сильно варьировать при повторных построениях или у разных исследователей. Следует отметить, что не только локализация области интереса влияет на конечный вид модели проводящих путей, но и то, что при этом способе используются такие переменные, как порог частичной анизотропии, величина угла

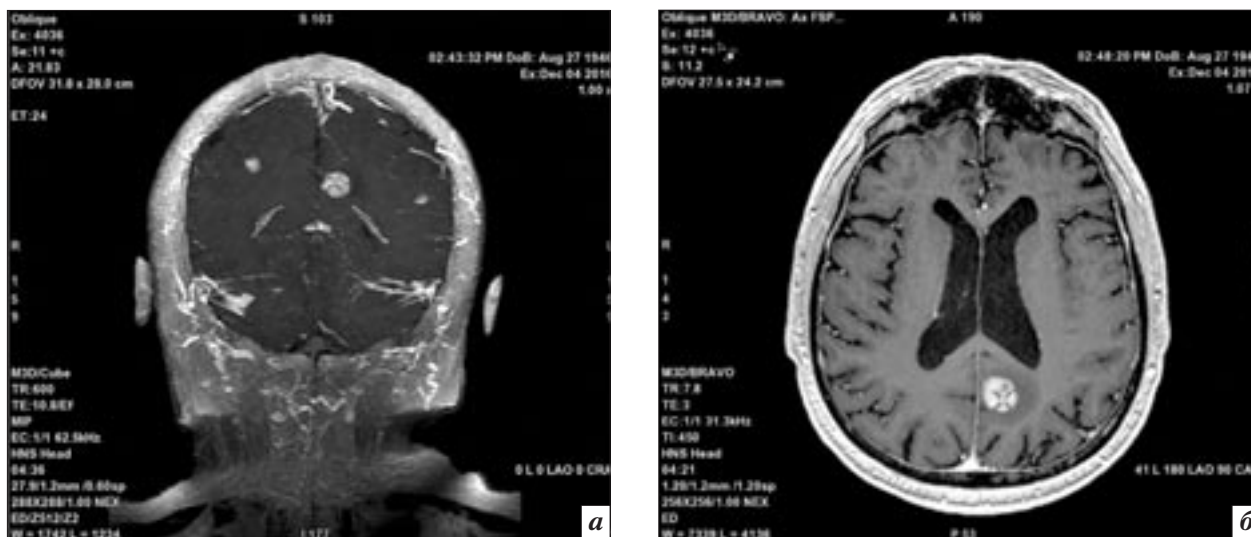


Рис. 1. T1-взвешенные МР-томограммы головного мозга с внутривенным контрастным усилением (гадобутирол 7,5 мл), полученные до проведения CPX: *а* – проекция максимальной интенсивности в коронарной плоскости; *б* – T1 FSPGR (Fast Spoiled Gradient Echo) в аксиальной плоскости. На изображениях определяются очаги патологического повышения МР-сигнала округлой формы, соответствующие метастазам. По периферии очагов расположена зона сниженного МР-сигнала, не имеющая четких границ, соответствующая отеку

между векторами диффузии в соседних вокселях, а также порог длины волокон. Количественные значения всех этих переменных меняются оператором во время моделирования, что приводит к большому различиям конечных результатов.

Еще один недостаток – несовершенство применяемых в настоящее время математических алгоритмов моделирования, например большинство из них не способны к выявлению пресекающихся волокон.

В своей работе мы попытались оценить изменение количественных и качественных показателей ДТИ, не прибегая к построению моделей проводящих путей, чтобы минимизировать вклад операторозависимых факторов. Вместо этого были проанализированы показатели ДТИ в каждом вокселе, входящем в зону интереса, у пациентов до проведения CPX и через 1 мес после нее. Оценка проводилась методом установки областей интереса (ROI-region of interest) с построением графических карт основного собственного вектора диффузии (main Eigen vector). Полученные при этом данные были проанализи-

зированы вместе с анатомическими изображениями МРТ. В результате были выявлены изменения, которые могут отражать регрессирование опухоли, а также использоваться в комплексе с изображениями стандартной постконтрастной МРТ для оценки продолженного роста.

Клиническое наблюдение

Пациент Т., 70 лет. В 2013 г. появились боль в спине. При обследовании выявлена аденокарцинома правого легкого (EGFR, ALK-негативная по данным молекулярно-генетического исследования) с метастазом в V поясничный позвонок. Прошел курс дистанционной лучевой терапии на метастаз в позвоночнике, три курса химиотерапии. В 2017 г. появилась слабость в правой ноге, неврологический статус: сознание ясное. Фотореакции живые, симметричные. Острота зрения снижена. Глазодвигательных нарушений нет. Лицо симметричное. Язык по средней линии. Сухожильные рефлексы S>D. Правосторонний гемипарез до 2–3 баллов в ноге и 4 в руке. Нарушений чувствительности нет. Симптом Бабинского справа.

В позе Ромберга неустойчив. Координаторные пробы (пальце-носовая, пяточно-коленная) выполняются с миоподпаданием. Индекс Карновского 70.

При ПЭТ-КТ всего тела с 18-фтордезоксиглюкозой и при МРТ головного мозга с внутривенным контрастным усилением (гадобутирол) выявлены три метастаза в головной мозг (рис. 1). В связи с множественным характером поражения было принято решение о проведении CPX.

Стереотаксическое облучение трех метастатических очагов проводили на аппарате Leksell Gamma Knife® Perfexion™ (ELEKTA AB, Stockholm) с актуальной мощностью дозы 3,020 Гр/мин. Для метастазов малого объема (473,2–573,7 мм³) предписанная краевая доза составляла 24 Гр по изодозе 48–50%. Очаг в левой лобной доле большего объема (3,26 см³) облучен с предписанной краевой дозой 21 Гр по изодозе 50%. Для всех очагов обеспечен целевой показатель покрытия (coverage) 99%.

В день лечения (до наложения стереотаксической рамы) выполнена МРТ в режиме ДТИ со следующими параметрами: изображе-

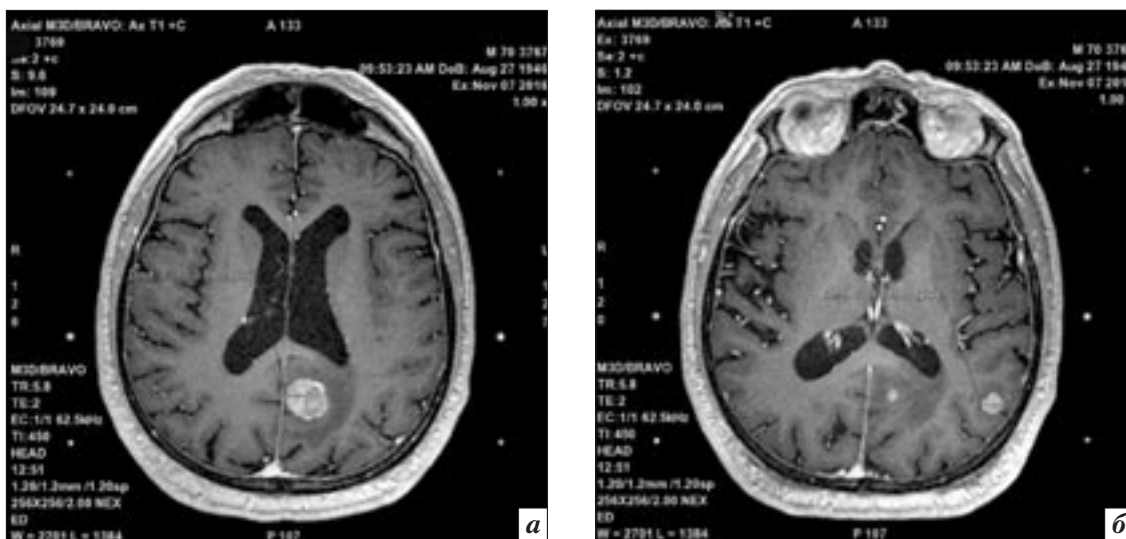


Рис. 2. МР-томограммы головного мозга в аксиальной плоскости (а, б), выполненные в режиме T1 FSPGR с внутривенным контрастным усилением (гадобутрол 7,5 мл), в стереотаксической раме, в день проведения CPX. На изображениях в головном мозге определяются очаги патологического повышения МР-сигнала округлой формы, соответствующие метастазам. По периферии очагов расположена зона умеренно пониженного МР-сигнала, не имеющая четких границ, соответствующая отеку

ния получены на МР-томографе с величиной индукции магнитного поля 3 Тесла (Signa HDxt 3.0 T; General Electric Healthcare, Milwaukee, USA). Сканирование в режиме ДТИ проводилось в строго аксиальной плоскости с использованием градиентной эхопланарной импульсной последовательности со следующими параметрами: TR 8000 мс, TE 88,4 мс, b-фактор 1000 с/мм², поле обзора (FOV – Field Of View) 260×260 мм, матрица 128×128 точек, толщина среза 3,5 мм, рас-

стояние между срезами 1,75 мм, количество повторов сбора данных 1 (NEX – Number of excitations), время сканирования 4 мин 56 с, количество направлений диффузионного градиента 35.

Для построения карт основного собственного вектора диффузии использовалось программное обеспечение Ready View (General Electric Healthcare Milwaukee, USA). Измерения проводились посредством установки области интереса в проекции метастазов, с захватом перифокального отека.

Контрольная МР-томография головного мозга была выполнена через 1 мес. Протокол сканирования наряду со стандартными анатомическими импульсными последовательностями включал режим ДТИ с теми же параметрами, что были описаны выше.

В день проведения CPX, после наложения стереотаксической рамы, выполнена МРТ для последующей регистрации пациента в пространственной системе координат аппарата CPX. На полученных при этом анатомических T1-взвешенных МР-изображениях после внутривенного введения контрастного препарата (гадобутрол) в обоих полушариях определяются патологические гиперинтенсивные очаги округлой формы, окруженные перифокальным отеком (рис. 2, 3). Во избежание артефактов от металла до фиксации рамы на голове пациента выполнена МРТ в режиме ДТИ. Полученные при этом изображения были автоматически корегистрованы (совмещены в пространстве) с анатомическими изображениями и обработаны описанным выше способом. В зону интереса вошли метастазы и перифокальный отек в ра-



Рис. 3. МР-томограмма головного мозга в аксиальной плоскости, выполненная в режиме T1 FSPGR с внутривенным контрастным усилением (гадобутрол 7,5 мл), в стереотаксической раме, перед проведением CPX. Визуализируется очаг патологического повышения МР-сигнала округлой формы, соответствующий метастазу. По периферии расположена зона умеренно пониженного МР-сигнала, не имеющая четких границ, соответствующая отеку

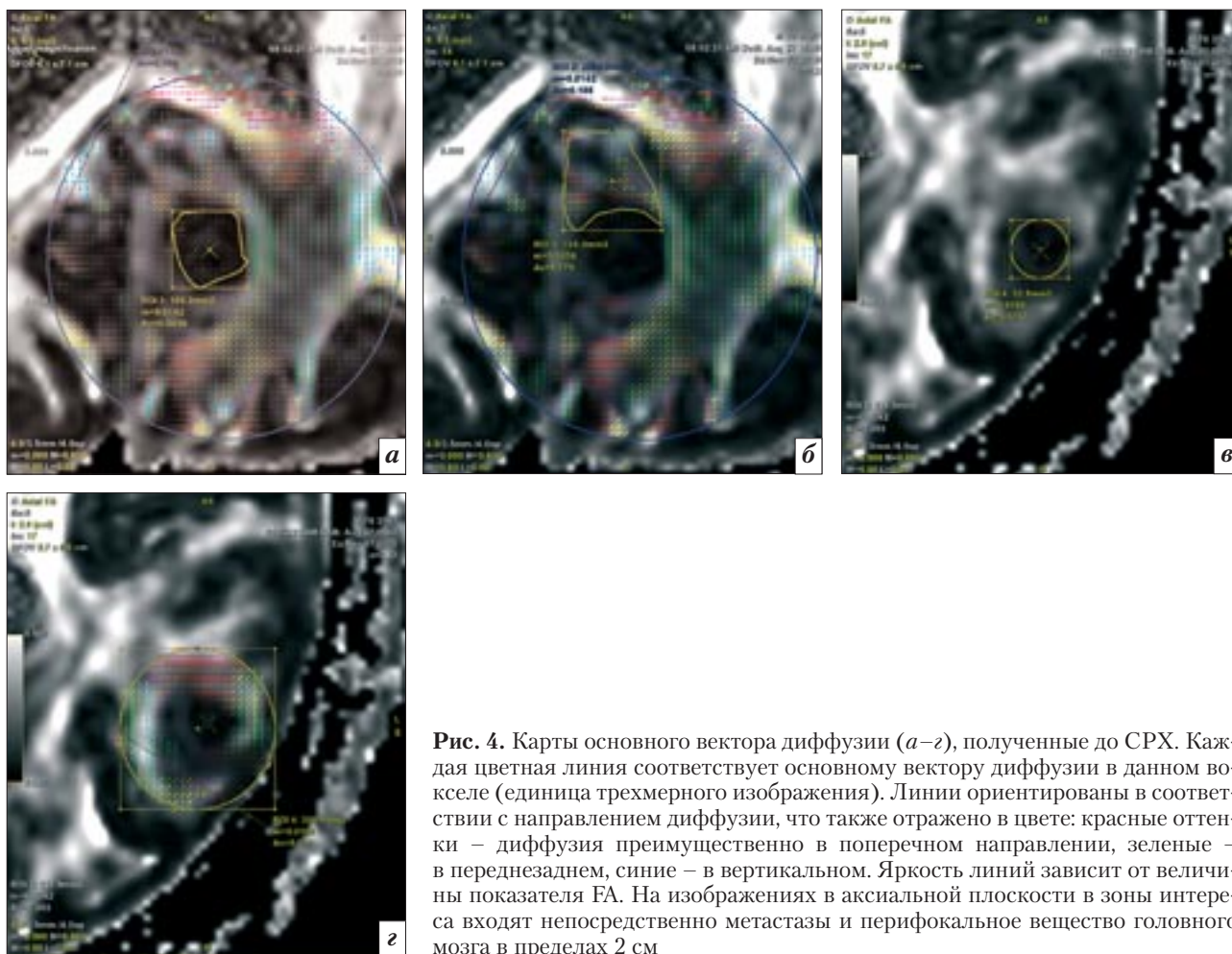


Рис. 4. Карты основного вектора диффузии (а–г), полученные до СРХ. Каждая цветная линия соответствует основному вектору диффузии в данном вокселе (единица трехмерного изображения). Линии ориентированы в соответствии с направлением диффузии, что также отражено в цвете: красные оттенки – диффузия преимущественно в поперечном направлении, зеленые – в переднезаднем, синие – в вертикальном. Яркость линий зависит от величины показателя FA. На изображениях в аксиальной плоскости в зоны интереса входят непосредственно метастазы и перифокальное вещество головного мозга в пределах 2 см



Рис. 5. МР-томограммы головного мозга в аксиальной плоскости (а–в), выполненные в режиме T1 FSPGR с внутривенным контрастным усилением (гадобутрол 7,5 мл), полученные при контрольном исследовании через 1 мес после СРХ. В головном мозге сохраняются очаги патологического повышения МР-сигнала округлой формы, соответствующие метастазам. Однако по сравнению с дооперационным исследованием определяется уменьшение их линейных размеров и визуальное уменьшение зоны отека

диусе 2 см (рис. 4). На диффузионно-тензорных изображениях (в качестве «рабочих» карт были использованы карты FA – fractional anisotropy) видно, что в каждом вокселе автоматически

определен суммарный вектор диффузии, изображенный в виде линии, обладающей такими показателями, как направление, цвет и насыщенность цвета. Линии ориентированы в соответствии

с направлением диффузии молекул жидкости через этот воксель. Цвет также отражает направление диффузии: красные оттенки характеризуют диффузию, ориентированную преимущественно

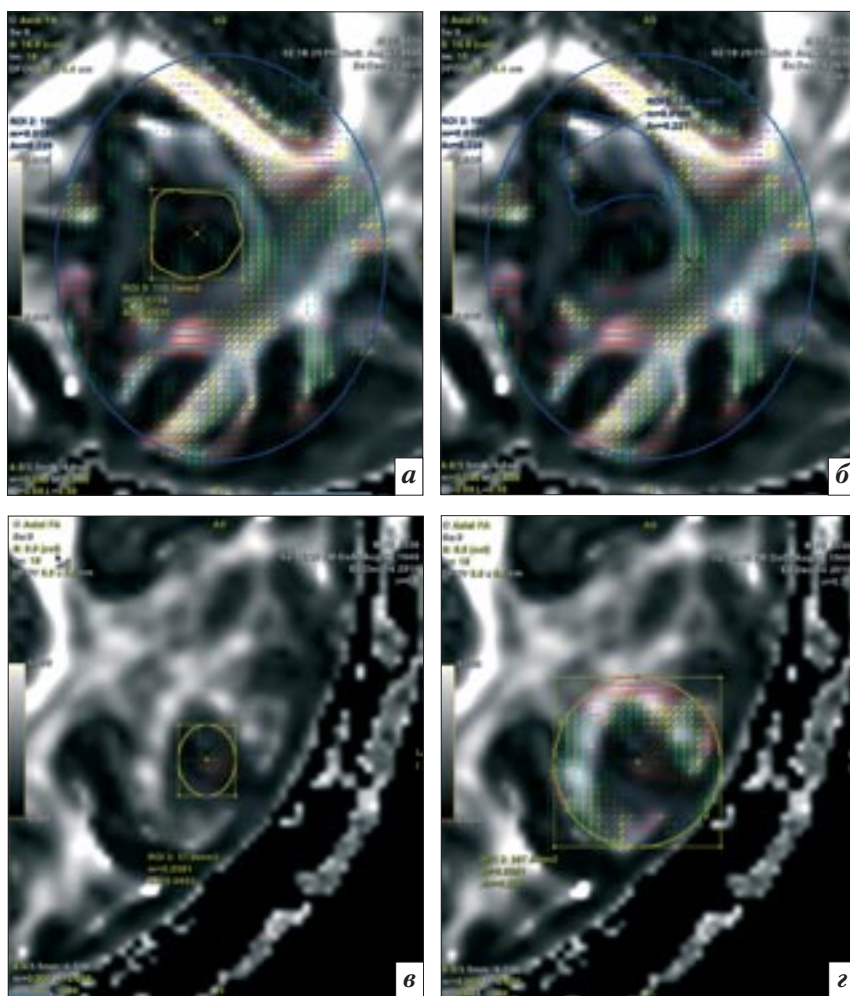


Рис. 6. Карты основного вектора диффузии, полученные после CPX (а–г). При сравнении изображений до и после лечения видно, что происходит изменение направления диффузии и увеличение показателя FA (повышение яркости линий)

в поперечном направлении, зеленые – в переднезаднем, синие – в вертикальном. Яркость линий зависит от величины показателя FA, который является расчетным и отражает степень направленности диффузии. Помимо описанных выше качественных показателей оценивалось количественное значение FA, которое составило 0,0496 и 0,179 для метастаза в глубоких

отделах левой теменной доли и перифокального отека соответственно, а также 0,0753 и 0,211 для метастаза в субкортикальных отделах левой теменной доли и перифокального отека соответственно.

Контрольное исследование было выполнено через 1 мес, полученные при этом анатомические изображения и изображения в режиме ДТИ были выполнены

с теми же техническими параметрами, что и до облучения.

На анатомических изображениях в головном мозге сохраняются очаги патологического повышения МР-сигнала округлой формы, соответствующие метастазам. Однако по сравнению с дооперационным исследованием определяется уменьшение их линейных размеров и визуальное уменьшение зоны отека (рис. 5). При сравнении изображений до и после лечения видно, что происходит изменение направления диффузии и увеличение показателя FA (повышение яркости линий) в зоне отека и в центральных отделах метастаза (рис. 6). Количественное значение FA составило 0,0625 и 0,221 для метастаза в глубоких отделах левой теменной доли и перифокального отека соответственно, а также 0,0953 и 0,222 для метастаза в субкортикальных отделах левой теменной доли и перифокального отека соответственно.

Обсуждение

После проведения CPX у пациента отмечено значительное уменьшение размеров метастазов. Это подтверждено при измерении линейных размеров на рабочей станции МРТ и при проведении автоматической волюметрии на станции планирования аппарата CPX (см. таблицу).

При анализе качественных и количественных показателей ДТИ выявлено, что после CPX диффузия становится более упорядоченной (анизотропной). Это проявляется в следующем:

- увеличение количественного показателя FA в центральных отделах образования;

Сравнение размеров и объема очагов метастатического поражения головного мозга до и через 1 мес после CPX

Наименование очага	Линейные размеры очага до облучения (оси X, Y, Z), мм	Линейные размеры очага через 1 мес после облучения (оси X, Y, Z), мм	Объем очага до операции, см ³	Объем очага через 1 мес после операции, см ³
LPD	12,5×19×20	10×12,5×11,5	3,26	1,98
LPS	11×12×10	9×7,7×5	0,57	0,36
LPS	9,5×16×11	7,5×14×7,3	0,47	0,15

Примечание. LPD – очаг в правой теменной доле, LPS – очаги в левой теменной доле.

– появление на цветовых картах группы вокселей, диффузия в которых имеет одинаковое направление;

– в периферических отделах (в зоне отека) меняется направление диффузии с преобладанием вертикального (синие оттенки на картах основного вектора).

Таким образом, в ходе клинического наблюдения отмечалось уменьшение объема метастазов после проведения лучевой терапии. Сопровождавшие его изменения диффузионно-тензорных изображений заключались главным образом в повышении анизотропии диффузии в структуре метастаза и в зоне перифокального отека.

Полученные данные позволяют нам предположить, что при уменьшении объема метастаза в ответ на лучевую терапию происходит изменение его структуры, приводящее к повышению направленности диффузии в нем. Аналогичные изменения в зоне перифокального отека могут быть вызваны уменьшением его выраженности.

Заключение

Оценка количественных и качественных показателей диффузионно-тензорных изображений до и после стереотаксического радиохирургического лечения метастазов головного мозга позволяет получить информацию об изменении процессов диффузии в патологическом очаге и в окружающих тканях. Метод имеет ряд преимуществ, среди которых:

- неинвазивность;
- отсутствие лучевой нагрузки;
- возможность многократного повторения;
- отсутствие необходимости введения экзогенных препаратов;
- невысокая цена исследования по сравнению с ПЭТ КТ [7];
- короткое время выполнения, что позволяет внедрить его в стандартный протокол обследования;

– снижение операторозависимых факторов при интерпретации результатов.

Более подробное изучение изменений в перспективе может позволить использовать метод для оценки эффективности лучевой терапии и при дифференциальной диагностике продолженного роста и лучевого некроза.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Литература / References

1. Lippitz B., Lindquist C., Paddick I., Peterson D., O'Neill K., Beaney R. Stereotactic radiosurgery in the treatment of brain metastases: the current evidence. *Cancer Treat. Rev.* [Internet]. 2014; 40 (1): 48–59.
2. Nayak L., Lee E.Q., Wen P.Y. Epidemiology of brain metastases. *Curr. Oncol. Rep.* 2012; 14 (1): 48–54.
3. Andrews D.W., Scott C.B., Sperduto P.W., Flanders A.E., Gaspar L.E., Schell M.C. et al. Whole brain radiation therapy with or without stereotactic radiosurgery boost for patients with one to three brain metastases: Phase III results of the RTOG 9508 randomised trial. *Lancet.* 2004; 363 (9422): 1665–72.
4. McTyre E., Scott J., Chinnaiyan P. Whole brain radiotherapy for brain metastasis. *Surg. Neurol. Int.* 2013; 4 (Suppl. 4): S236–44.
5. Fink K.R., Fink J.R. Imaging of brain metastases. *Surg. Neurol.* 2013; 4 (Suppl. 4): S209–19.
6. Juhász C., Dwivedi S., Kamson D.O., Michelhaugh S.K., Mittal S. Comparison of amino acid positron emission tomographic radiotracers for molecular imaging of primary and metastatic brain tumors. *Mol. Imaging.* 2014; 13 (6).
7. Buck A.K., Herrmann K., Stargardt T., Dechow T., Krause B.J., Schreyögg J. Economic evaluation of PET and PET/CT in oncology: evidence and methodologic approaches. *J. Nucl. Med. Technol.* 2010; 38 (1): 6–17.
8. Jennings D., Hatton B.N., Guo J., Galons J.-P., Trouard T.P., Raghunand N. et al. Early response of prostate carcinoma xenografts to docetaxel chemotherapy monitored with diffusion MRI. *Neoplasia.* 2002; 4 (3): 255–62.
9. Chenevert T.L., Meyer C.R., Moffat B., Rehemtulla A., Mukherji S.K., Gebarski S.S. et al. Diffusion MRI: a new strategy for assessment of cancer therapeutic efficacy. *Mol. Imaging.* 2002; 1 (4): 336–43.
10. Chenevert T.L., Stegman L.D., Taylor J.M., Robertson P.L., Greenberg H.S., Rehemtulla A. et al. Diffusion magnetic resonance imaging: an early surrogate marker of therapeutic efficacy in brain tumors. *J. Natl. Cancer. Inst.* 2000; 92 (24): 2029–36.
11. Hall D.E., Moffat B.A., Stojanovska J., Johnson T.D., Li Z., Hamstra D.A. et al. Therapeutic efficacy of DTI-015 using diffusion magnetic resonance imaging as an early surrogate marker. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10 (23): 7852–9.
12. Ross B.D., Moffat B., Lawrence T.S., Mukherji S.K., Gebarski S.S., Quint D.J. et al. Evaluation of cancer therapy using diffusion magnetic resonance imaging. *Mol. Cancer. Ther.* 2003; 2: 581–7.
13. Basser P.J., Mattiello J., Leblond D. Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin echo. *J. Magn. Reson. Series B.* 1994; 103: 247–54.
14. Tournier J.D., Calamante F., Gadian D.G., Connelly A. Direct estimation of the fiber orientation density function from diffusion-weighted MRI data using spherical deconvolution. *Neuroimage.* 2004; 23 (3): 1176–85.
15. Perrin M., Poupon C., Cointepas Y., Rieul B., Golestani N., Pallier C. et al. Fiber tracking in q-ball fields using regularized particle trajectories. *Inf. Process. Med. Imaging.* 2005; 3565: 52–63.
16. Parker G.J.M., Alexander D.C. Probabilistic anatomical connectivity derived from the microscopic persistent angular structure of cerebral tissue. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2005; 360 (1457): 893–902.

Поступила 14.06.2017

Принята к печати 07.08.2017