

ОНКОХИРУРГИЯ ONCOSURGERY

Том 4 1'2012
ISSN 2077-4230

В ЭТОМ НОМЕРЕ:

ВЛАДИМИРУ АЛЕКСАНДРОВИЧУ
ВИШНЕВСКОМУ – 75 ЛЕТ

АУТОТРАНСПЛАНТАЦИЯ
ЛОСКУТА НА ОСНОВЕ ПРЯМОЙ
МЫШЦЫ ЖИВОТА

МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ
НАРУШЕНИЯ ГОЛОСА ПРИ
ОПЕРАЦИИ НА ЩИТОВИДНОЙ
ЖЕЛЕЗЕ

ДИАГНОСТИКА
НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

ОСЛОЖНЕНИЯ
ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
РАКА ТЕЛА МАТКИ

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
РЕЗУЛЬТАТЫ РЕЗЕКЦИИ
ПРЯМОЙ КИШКИ



Издательство
«Онкохирургия Инфо»

Уважаемые коллеги,

Предлагаем Вашему вниманию первый в 2012 году номер журнала «Онкохирургия» политематического содержания, охватывающий вопросы диагностики и лечения злокачественных опухолей различных локализаций, включая заболевания лимфатической системы.

Важным разделом этого выпуска является ХРОНИКА.

В этом разделе мы знакомим Вас с крупными научными событиями, а также научными сообщениями, представленными на этих мероприятиях.

Обращаем внимание читателей и авторов на необходимость четкого соблюдения правил оформления статей для публикации в журнале «Онкохирургия» в связи с их комплиментарностью правилам международных информационных агентств, что позволяет авторам рассчитывать на международный индекс цитирования.

Надеемся, что войдя в ряд ведущих отраслевых научно-практических изданий, наш журнал станет общероссийским профессиональным дискуссионным форумом, помощником в нашей повседневной деятельности.

С уважением,
редакция журнала

Издательство ООО «ОНКОХИРУРГИЯ ИНФО»

115208, Москва, Восточная ул., д. 10, оф. 16
Тел.: (495) 663-15-66 8-915-356-03-07 Факс: (495) 221-11-73
E-mail: oncosurgery@gmail.ru
www.oncology.oncosurgery.ru

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР	Чиссов В.И. Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Зам. главного редактора	Решетов И.В. Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор Кубышкин В.А. Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Генеральный директор	Боев А.С.
Зав. редакцией	Кулиш С.Л.
Главный научный редактор	Трахтенберг А.Х.
Научные редакторы	Домрачев С.А. Решетов Д.Н. Мареk К. Dobke, США
Литературный редактор	Полесский В.А.
Переводчик	Урлова А.Н.
Компьютерный набор	Болсунова Д.Б.
Компьютерная верстка	Любимый А.В.

Формат 210x280 мм – Бумага мелованная. Печать офсетная Усл.печ.л. 7. Тираж 1000. Заказ № 3689

® Перепечатка полностью или частями возможна только с письменного разрешения редакции



Издательство
«Онкохирургия Инфо»

<http://www.oncology.oncosurgery.ru>

ОСНОВАН В 2008

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

УЧРЕДИТЕЛИ:

- Ассоциация онкологов России
- ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России
- Фонд паллиативной помощи и реабилитации больных
- Российская ассоциация терапевтических радиационных онкологов

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

В.И. Чиссов Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

И.В. Решетов Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
В.А. Кубышкин Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

М.Д. Алиев Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Ю.Ю. Андреева доктор медицинских наук,
Б.А. Бердов доктор медицинских наук, профессор
А.В. Бутенко доктор медицинских наук, профессор
Л.З. Вельшер доктор медицинских наук, профессор
Н.Н. Волченко доктор медицинских наук, профессор
Д.А. Гранов доктор медицинских наук, профессор
В.Ф. Касаткин Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Е.П. Куликов доктор медицинских наук, профессор
О.В. Пикин (секретарь) доктор медицинских наук
В.А. Порханов доктор медицинских наук, профессор
Д.Н. Решетов доктор медицинских наук
А.Ф. Романчишен доктор медицинских наук, профессор
Ю.С. Сидоренко Академик РАМН, РАН, доктор медицинских наук, профессор
В.Ю. Скоропад доктор медицинских наук
И.С. Стилиди Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
В.П. Харченко Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор
В.А. Черкаев доктор медицинских наук, профессор
Е.Ц. Чойнзонов Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
А.А. Шелеско (секретарь) кандидат медицинских наук
Ю.А. Шелыгин доктор медицинских наук, профессор
А.В. Чжао доктор медицинских наук, профессор

РЕДСОВЕТ:

А.А. Вишнеvский доктор медицинских наук, профессор
В.В. Дворниченко доктор медицинских наук, профессор
А.Г. Зирин доктор медицинских наук,
А.Н. Коновалов Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор
Н.О. Миланов Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор
В.М. Моисеенко доктор медицинских наук, профессор
Г.А. Новиков доктор медицинских наук, профессор
О.А. Орлов доктор медицинских наук, профессор
Н.А. Осипова доктор медицинских наук, профессор
И.Г. Русаков доктор медицинских наук, профессор
В.Ф. Семиглазов Член-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор
А.В. Черниченко доктор медицинских наук, профессор
Е.В. Филоненко доктор медицинских наук, профессор

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ:

V. Anikin Великобритания
M. Auersperg Словения
Marek K. Dobke, США
G. dosSantos Португалия
N.O. Higgins Ирландия
I. Kott Израиль
M. Moraes Бразилия
D.L. Morton США
V. Parisi Италия
J. Pfeifer Австрия
R. Pollok США
M. Ramli Индонезия
F. Rochard Франция
J. Shah, США
H. Shukla Индия
K.V. Smitten Финляндия
M.G. Smola Австрия
W. Temple Канада
Г.В. Бондарь Украина
И.В. Залуцкий Белоруссия
Ya. Zhashkevich Польша

ПАРТНЕР ВСЕМИРНОЙ ФЕДЕРАЦИИ ОБЩЕСТВ ХИРУРГИЧЕСКИХ ОНКОЛОГОВ

Том 4 №1 • 2012

ОНКОХИРУРГИЯ ONCOSURGERY

FOUNDED IN 2008

The journal is included into the List of Russian leading peer-reviewed scientific journals in which publication of essential scientific results of dissertations in candidacy for the degree of Ph.D. and M.D. is obligatory

FOUNDERS:

- Oncologists Association of Russia
- P.A. Herzen Moscow cancer Research Institute
- Fund of Rehabilitation Palliative Medicine
- Association of Therapeutical Radiation Oncologists of Russia

EDITOR-IN-CHIEF:

V.I. Chissov Academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor

DEPUTY OF THE EDITOR-IN-CHIEF:

I.V. Reshetov Corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor
V.A. Kubyshekin Corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor

EDITORIAL BOARD:

M.D. Aliev Academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor
Y.Y. Andreeva doctor of medical sciences,
B.A. Berdov doctor of medical sciences, professor
A.V. Butenko doctor of medical sciences, professor
L.Z. Velsheer doctor of medical sciences, professor
N.N. Volchenko doctor of medical sciences, professor
D.A. Granov doctor of medical sciences, professor
V.F. Kasatkin Corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor
E.P. Kulikov doctor of medical sciences, professor
O.V. Pikin doctor of medical sciences
V.A. Porkhanov doctor of medical sciences, professor
D.N. Reshetov doctor of medical sciences
A.F. Romanchishen doctor of medical sciences, professor
Y.S. Sidorenko Academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor
V.Y. Skoropad doctor of medical sciences
I.S. Stilidi Corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor
V.P. Kharchenko Academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor
V.A. Cherekaev doctor of medical sciences, professor
E.C. Choinzonov Corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor
A.A. Shelesko candidate of medical sciences
Y.A. Shelygin doctor of medical sciences, professor
A.V. Chzhao doctor of medical sciences, professor

EDITORIAL COUNCIL:

A.A. Vishnevsky doctor of medical sciences, professor
V.V. Dvornichenko doctor of medical sciences
A.G. Zirin doctor of medical sciences
A.N. Kononov Academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor
N.O. Milanov Academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor
V.M. Moiseenko doctor of medical sciences, professor
G.A. Novikov doctor of medical sciences, professor
O.A. Orlov doctor of medical sciences, professor
N.A. Osipova doctor of medical sciences, professor
I.G. Rusakov doctor of medical sciences, professor
V.F. Semiglazov Corresponding member of RAMS, doctor of medical sciences, professor
A.V. Chernichenko doctor of medical sciences, professor
E.V. Filonenko doctor of medical sciences, professor

FOREIGN MEMBERS OF THE EDITORIAL BOARD:

V. Anikin United Kingdom
M. Auersperg Slovenia
Marek K. Dobke, USA
G. dosSantos Portugal
N.O. Higgins Ireland
I. Kott Israel
M. Moraes Brazil
D.L. Morton USA
V. Parisi Italy
J. Pfeifer Austria
R. Pollok USA
M. Ramli Indonesia
F. Rochard France
J. Shah, USA
H. Shukla India
K.V. Smitten Finland
M.G. Smola Austria
W. Temple Canada
G.V. Bondar Ukraine
I.V. Zalutsky Belarus
Ya. Zhashkevich Poland

PARTNER OF WORLD FEDERATION OF SURGICAL ONCOLOGY SOCIETIES (WFSOS)

Volume 4 №1 • 2012

ВЛАДИМИРУ АЛЕКСАНДРОВИЧУ ВИШНЕВСКОМУ – 75 ЛЕТ

Владимир Александрович Вишневский в 1960 г. с отличием окончил Киевский медицинский институт. Профессиональное становление хирурга он прошел в медсанчасти угольной шахты и центральной больнице г. Ровеньки Луганской области. В 1966 г. поступил в аспирантуру Института хирургии им. А.В. Вишневского. С этого момента трудовая и научная деятельность Владимира Александровича оказалась связанной в основном с хирургическим лечением заболеваний желчевыводящих протоков и очаговых поражений печени. По окончании аспирантуры в 1969 г. В.А. Вишневский защитил кандидатскую диссертацию на тему «Желчеотводящие анастомозы в хирургии воспалительных заболеваний желчных путей» и продолжил работу в Институте хирургии вначале в должности младшего, а затем старшего и ведущего научного сотрудника отдела абдоминальной хирургии. В 1991 г. он защитил докторскую диссертацию на тему «Совершенствование методов хирургического лечения очаговых образований печени». В том же году Владимир Александрович возглавил в Институте отделение хирургии печени и поджелудочной железы, руководителем которого он является до настоящего времени.

Профессор В.А. Вишневский является одним из основоположников и признанных лидеров отечественной хирургической гепатологии. Его научная и практическая деятельность неразрывно связана со становлением этой отрасли хирургии не только в нашей стране, но и за рубежом. Продолжая школу своих предшественников, В.А. Вишневский внес крупный вклад в развитие реконструктивной хирургии желчевыводящих протоков и хирургии рака проксимальных печеночных протоков. Трудно переоценить вклад Владимира Александровича в разработку и совершенствование принципов и техники расширенных гемигепатэктомий в сочетании с резекцией хвостатой доли и одномоментным формированием би-, три- и тетрагепатикоэнтероанастомозов, разработку и внедрение многочисленных методов разделения паренхимы печени и обеспечения гемостаза.

С научно-практической и организационной деятельностью В.А. Вишневского связано создание прогрессивной идеологии в хирургии первичных и метастатических поражений печени, опухолей ворот и паразитарных поражений печени. По существу, он является организатором одного из ведущих центров хирургической гепатологии в нашей стране.

Под руководством В.А. Вишневского успешно разрабатывались и внедрялись прогрессивные методы хирургического лечения заболеваний поджелудочной

железы. Он одним из первых в России накопил большой опыт панкреатодуоденальных резекций и других видов вмешательств на поджелудочной железе. Впервые в стране В.А. Вишневским выполнена панкреатэктомия.

В.А. Вишневский является автором более 600 научных работ, а также 6 монографий и руководств, в том числе «Послеоперационные заболевания желчных путей», «Доброчастные опухоли печени», «Рак поджелудочной железы», «Операции на печени» и др. Под его руководством защищено 8 докторских и 14 кандидатских диссертаций. За выдающиеся заслуги в развитии отечественной науки, подготовку высококвалифицированных врачебных и научных кадров профессор В.А. Вишневский награжден орденами «Знак Почета» и «Почета», несколькими медалями. Владимир Александрович является лауреатом Государственной премии РФ, премии Правительства РФ.



Признанием авторитета В.А. Вишневского среди коллег явилось избрание его в 2003 г. президентом Ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ. Профессор В.А. Вишневский является заместителем главного редактора журнала «Анналы хирургической гепатологии», членом международной и Европейской ассоциации хирургов-гепатологов, членом редколлегии 3-х хирургических журналов, входит в состав Проблемной комиссии «Хирургия органов брюшной полости», является членом ученых советов ряда вузов.

Заслуги Владимира Александровича в становлении и организации отечественной хирургии печени и поджелудочной железы известны и высоко оценены за рубежом. Профессор В.А. Вишневский является почетным профессором Республиканского специализированного центра хирургии им. академика В. Вахидова, почетным профессором Научного центра хирургии им. А.Н. Сызганова, почетным академиком медицинских наук Республики Казахстан. Он отмечен почетной наградой Международной ассоциации хирургов, гастроэнтерологов и онкологов (IASGO) «За выдающийся вклад в области лечения заболеваний печени и хирургической гепатологии».

Владимир Александрович продолжает активную хирургическую и педагогическую деятельность и встречает свой юбилей с огромным запасом творческих сил и планов.

Друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Владимира Александровича с 75-летием, желают крепкого здоровья и дальнейших успехов в клинической и научной деятельности.

**ОДНОФОТОННАЯ ЭМИССИОННАЯ
КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ
С ^{99m}Tc-МИБИ В ДИАГНОСТИКЕ
И ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ
РАКОМ ГОРТАНИ**

Зельчан Р.В., Чернов В.И., Тицкая А.А.,
Синилкин И.Г., Чижевская С.Ю., Суркова П.В.,
Фролова И.Г., Чойнзон Е.Л.

Научно-исследовательский институт онкологии
Сибирского отделения РАМН,
Отделение радионуклидной диагностики, Томск, Россия

Контакт: Зельчан Р.В. E-mail: r.zelchan@yandex.ru

Цель работы. Изучение возможности применения однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с ^{99m}Tc-метоксиизобутилизонитрилом в комплексной диагностике и оценке эффективности неoadъювантной химиотерапии злокачественных опухолей гортани и гортаноглотки.

Материалы и методы. В исследование включены 36 пациентов с опухолью гортани и гортаноглотки T1-4N0-1M0, которым проводили однофотонную эмиссионную компьютерную томографию с ^{99m}Tc-метоксиизобутилизонитрилом. Повторное исследование после двух курсов неoadъювантной химиотерапии прошли 14 пациентов основной группы. Контрольную группу составили 20 пациентов, проходивших обследование по поводу заболеваний молочных желез.

Результаты. Чувствительность метода составила 97%. Ни у одного пациента из контрольной группы не было выявлено асимметричных очагов гиперфиксации препарата в проекции гортани и гортаноглотки. Патологическое накопление препарата в проекции метастатически пораженных лимфатических узлов выявлено лишь в 25%. В группе пациентов, проходивших повторное обследование, визуально отмечалось выраженное снижение накопления препарата в опухоли, что подтверждалось произведенными расчетами: индекс опухоль/подчелюстная слюнная железа уменьшился с $0,73 \pm 0,37$ до $0,51 \pm 0,09$ ($p < 0,05$), индекс опухоль/околоушная слюнная железа $0,76 \pm 0,47$ до $0,46 \pm 0,19$ ($p = 0,06$), индекс опухоль/скальп с $5,81 \pm 2,98$ до $4,47 \pm 1,22$ ($p > 0,08$).

Выводы. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc-метоксиизобутилизонитрилом может стать не только одним из дополняющих методов диагностики рака гортани и гортаноглотки, но и объективным методом оценки эффекта неoadъювантной химиотерапии.

Ключевые слова: рак гортани и гортаноглотки, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ^{99m}Tc-метоксиизобутилизонитрил.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наблюдается неуклонный рост заболеваемости злокачественными новообразованиями. По данным ВОЗ, в мире ежегодно регистрируется свыше 8 млн вновь выявленных онкологических больных. Смертность от рака занимает

**SINGLE-PHOTON EMISSION
COMPUTED TOMOGRAPHY
WITH ^{99m}Tc-MIBI IN DIAGNOSTICS
AND TREATMENT OF PATIENTS
WITH LARYNGEAL CANCER**

Zelchan RV, Chernov VI, Titskaya AA,
Sinilkin IG, Chigevskaya SJu, Surkova IV,
Frolova IG, Choinzonov EL

Cancer Research Institute
of Siberian Branch of RAMS
The department of radionuclide diagnostics, Tomsk, Russia

Контакты: Zelcan RV E-mail: r.zelchan@yandex.ru

The purpose. Potentials of single-photon emission computed tomography in diagnostics and assessment of chemotherapeutic response for laryngeal and hypopharyngeal cancer are considered in the article.

Materials and methods: the study included 36 patients with laryngeal and hypopharyngeal cancer T1-4N0-1M0, who underwent single-photon emission computed tomography with ^{99m}Tc-metoxi-izobutyl-izonitryl. 14 patients of the main group had repeat SPECT after 2 courses of neoadjuvant chemotherapy. 20 patients with breast disease were in the control group.

Results: the sensitivity of the method accounted for 97%. None of patients of control group had asymmetric radiotracer foci in the projection of larynx and hypopharynx. Pathological radiotracers in metastatic lymph nodes were only in 25% of cases. The measured data were as follows: tumor/submandibular gland index = 0.73 ± 0.37 , tumor/parotid gland index = 0.76 ± 0.47 , tumor/scalp index = 5.81 ± 2.98 . For patients with repeated study significant reduction of agent accumulation in tumor, it was confirmed by calculation as follows: tumor/submandibular gland index decreased from 0.73 ± 0.37 to 0.51 ± 0.09 ($p < 0.05$), tumor/parotid gland index – from 0.76 ± 0.47 to 0.46 ± 0.19 ($p = 0.06$), tumor/scalp index – from 5.81 ± 2.98 to 4.47 ± 1.22 ($p > 0.08$).

Conclusion: single-photon emission computed tomography with ^{99m}Tc-metoxi-izobutyl-izonitryl may be not only one of complementary diagnostic methods for laryngeal and hypopharyngeal cancer but objective method for assessment of response on neoadjuvant chemotherapy.

Key words: laryngeal and hypopharyngeal cancer, single-photon emission computed tomography, ^{99m}Tc-metoxi-izobutyl-izonitryl.

третье ранговое место после заболеваний сердечно-сосудистой системы, несчастных случаев и травм. Кроме того, онкологические заболевания занимают второе место среди причин инвалидизации населения, в т. ч. трудоспособного возраста [1, 2]. В структуре заболеваемости злокачественными

новообразованиями рак гортани занимает 9-е место и составляет 4,7%, а в структуре заболеваемости мужского населения – 4-е место [1, 4, 5]. По данным В.И. Чисова с соавт. (2011), на конец 2010 года под наблюдением находилось 41375 больных раком гортани, что соответствует показателю распространенности 29,2 на 100 тыс. населения. При анализе темпов прироста заболеваемости раком гортани отмечается тенденция к ее увеличению [6]. В настоящее время среди впервые выявленных больных раком гортани частота I-II стадии составляет 35,3%, а рак *in situ* – 6%. В подавляющем же большинстве случаев (60–70%), злокачественные опухоли гортани диагностируют в III–IV стадии [6].

На современном этапе развития онкологии диагностика рака гортани является комплексной и включает в себя ларингоскопию, фиброларингоскопию, компьютерную томографию (КТ) и/или магнитно-резонансную томографию (МРТ), радионуклидные методы исследования.

Оправданность применения методов ядерной медицины в диагностике рака гортани несомненна. Несмотря на достижения современной эндоскопической техники, фиброларингоскопия является инвазивным методом, проводится под местной анестезией, и нередко адекватный осмотр зоны интереса является весьма непростой задачей. При обследовании пациентов раком гортани методами КТ и МРТ возникают сложности дифференциальной диагностики постлучевых фиброзных изменений и рецидива опухоли. Немаловажным является и тот факт, что КТ и МРТ зачастую не несут дополнительной информации о состоянии зон регионарного лимфооттока и характере изменений в лимфатических узлах. Это обстоятельство, в свою очередь, требует проведения тонкоигольной биопсии под контролем УЗИ, которая является инвазивным методом, может иметь осложнения и требует затрат на проведение цитологического исследования. Кроме того, ни один из вышеперечисленных методов диагностики рака гортани не позволяет предсказать и адекватно оценить эффект проводимой химиотерапии. Повысить качество диагностики рака гортани, а также получить дополнительную информацию о состоянии первичного опухолевого очага и зон регионарного лимфооттока могут методы ядерной медицины, поскольку они являются функциональными и отражают метаболические процессы, происходящие в опухолевой ткани. Наиболее изученным и получившим широкое распространение радиофармпрепаратом для визуализации опухолевой ткани с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОЭКТ) является ^{99m}Tc -метоксиизобутилизонитрил (^{99m}Tc -МИБИ) [7–9]. В эксперименте было показано, что наиболее интенсивно ^{99m}Tc -МИБИ накапливается в митохондриях жизнеспособных атипичных клеток, отражая тем

самым интенсивность обменных процессов в опухолевой ткани и уровень кровотока в ней [10–12].

Целью настоящей работы явилось исследование возможностей применения ОЭКТ с ^{99m}Tc -МИБИ в комплексной диагностике и оценке эффективности неoadъювантной химиотерапии злокачественных опухолей гортани и гортаноглотки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 36 больных раком гортани или гортаноглотки $T_{1-4}N_{0-1}M_0$, находившиеся на лечении в Научно-исследовательском институте онкологии СО РАМН г. Томска. Наибольшую по численности группу составили пациенты с опухолью T_3 – 24 пациента (66,7%) и T_2 – 8 (22,2%), затем T_1 – 2 (5,5%) и T_4 – 2 (5,5%). По данным цитологического исследования биопсийного материала, у 8 (22,2%) больных были выявлены метастазы в регионарных лимфатических узлах N1, у 28 (77%) пациентов их обнаружено не было (N0). На момент обследования ни у одного из пациентов не было обнаружено признаков отдаленного метастазирования. У 12 пациентов проводили совмещение ОЭКТ и КТ. Восемнадцать пациентов из числа основной группы были обследованы повторно, после проведения двух курсов неoadъювантной химиотерапии по схеме паклитаксел 175 мг/м² / карбоплатин АUC-6 с интервалом 3 недели. Контрольную группу составили 20 женщин, проходивших обследование по поводу рака молочной железы.

Всем больным были выполнены: ларингоскопия, ультразвуковое исследование (УЗИ) шеи, фиброларингоскопия с биопсией для морфологического исследования, КТ органов шеи и ОЭКТ с ^{99m}Tc -МИБИ. Комбинированное лечение предполагало обязательное выполнение оперативного вмешательства в радикальном объеме с последующим морфологическим и иммуногистохимическим исследованием операционного материала в тех случаях, когда при оценке результатов консервативного лечения была достигнута стабилизация или регресс опухоли менее 50%.

ОЭКТ гортани проводили на двухдетекторной гамма-камере E.CAM 180 фирмы «Siemens» (Германия) с использованием высоко разрешающих коллиматоров для энергии 140 КэВ. Радиофармпрепарат (РФП) ^{99m}Tc -Технетрил (МИБИ, «Диамед», Москва) вводили в кубитальную вену в дозе 550 МБк. Исследование проводили через 20 минут и 2 часа после введения РФП. Во время исследования пациенты находились в положении «лежа на спине». В поле зрения детектора входили область головы и шеи, трахея до бифуркации. Проводили запись 16 проекций (каждая по 30 сек) в матрицу 64X64 пиксела без аппаратного увеличения. Полученные данные подвергались компьютерной обработке с использованием специализированной системы E.Soft фирмы «Siemens» (Германия) и по-

лучением сагиттальных, поперечных и коронарных срезов. Оценку томосцинтиграмм проводили визуально, определяли накопление препарата в проекции гортани и зон регионарного лимфооттока. Сравнивали контралатеральные области, при этом патологическими считали асимметричные участки гиперфиксации индикатора. Проводили вычисление следующих индексов: опухоль/подчелюстная слюнная железа (о/подчел.жел.р), опухоль околоушная слюнная железа (о/околоушн.жел.р), опухоль/скальп (о/скальп) в раннюю фазу исследования.

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением пакета программ STATISTICA компании «StatSoft.Inc», версия 6.0, с использованием описательной статистики (*descriptive statistics*) и методом Манна-Уитни для оценки значимости внутригрупповых различий.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группе условно здоровых лиц визуализировалось физиологическое накопление препарата в проекции щитовидной железы, мышц шеи, слизистой носовой полости и различных групп слюнных желез. В проекции гортани участков гиперфиксации индикатора не определялось (Рис. 1).

При проведении фиброларингоскопии и компьютерной томографии у больных раком гортани или гортаноглотки первичный очаг был выявлен в 100%.



Рис. 1. Физиологическое распределение ^{99m}Tc-МИБИ: 1 – щитовидная железа; 2 – околоушная слюнная железа; 3 – подчелюстная слюнная железа

У больных раком гортани или гортаноглотки при исследовании с ^{99m}Tc-МИБИ очаги асимметричной гиперфиксации индикатора в проекции гортани визуализировались у 35 (97%) из 36 пациентов.

Чувствительность метода, по нашим данным, составила 97%. В единственном случае мы получили ложно отрицательный результат, хотя по данным КТ имела место больших размеров опухоль с обширным местным распространением. Отсутствие накопления препарата в проекции опухоли связано, вероятно, с нарушением кровоснабжения опухолевой ткани, поскольку известно, что выраженность кровотока играет ключевую роль в интенсивности включения индикатора в опухоль [11]. В таких ситуациях повысить информативность исследования помогает примененная нами методика совмещения ОЭКТ и КТ изображений, которая позволила визуализировать патологиче-

ское включение в злокачественное новообразование у 12 (100%) больных (Рис. 2). По данным Т. Leitha, при совмещении ОЭКТ и КТ изображений чувствительность и специфичность методик приближается к 100% как в диагностике первичной опухоли, так и рецидивов [14]. Следует отметить, что при общепринятых ограничениях метода в визуализации новообразований размерами менее 10 мм в нашем исследовании более чем в 90% визуализировались опухоли меньше 10 мм в наибольшем измерении, а наименьшее обнаруженное образование составило 4 мм.

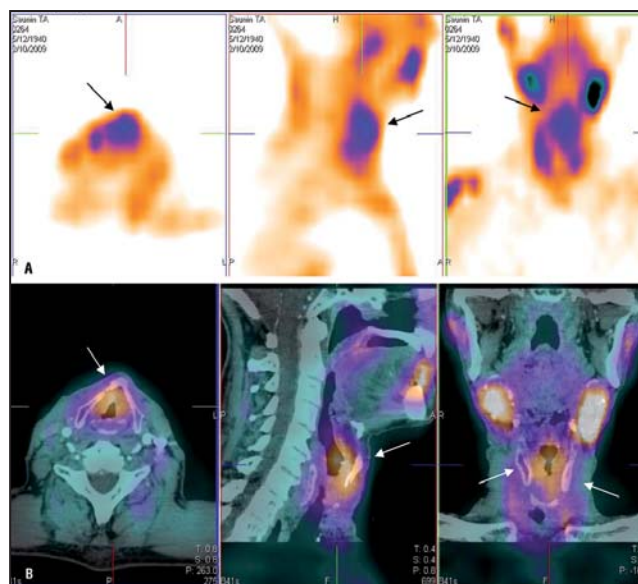


Рис. 2. Сцинтиграмма пациента с диагнозом рак гортани Т3N0M0: А – гиперфиксация индикатора в проекции гортани; В – совмещенное ОЭКТ и КТ изображение

При вычислении количественных показателей получили следующие результаты: среднее значение индекса О/подчел.жел.р = 0,73±0,37, среднее значение индекса О/околоушн.жел.р = 0,76±0,47 и среднее значение О/скальп_р = 5,81±2,98. Однако какой-либо связи вычисленных показателей с гистологическим типом опухоли, степенью ее дифференцировки или стадией процесса мы не обнаружили.

Состояние зон регионарного лимфооттока оценивали с помощью морфологического исследования материала, полученного с помощью тонкоигльной биопсии под контролем УЗИ, при этом в 22,2% было диагностировано метастатическое поражение лимфатических узлов шеи. Из указанных больных лишь у 2 (25%) было выявлено накопление индикатора в проекции метастатически пораженных лимфатических узлов.

В группе пациентов, которые обследовались повторно после проведения химиотерапии в неoadьювантном режиме, у 14 человек визуально отмечали выраженное снижение накопления индикатора в опухолевой ткани (Рис. 3).

Этот факт был расценен как положительный эффект проведенного лечения, что подтвердилось

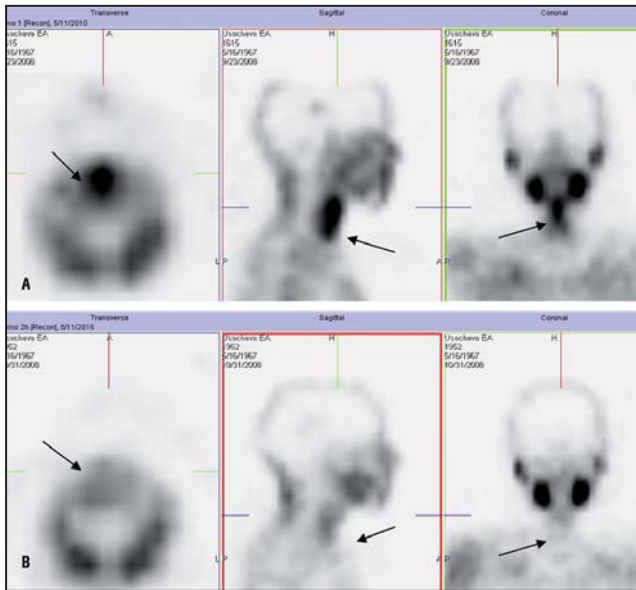


Рис. 3. ОЭКТ с ^{99m}Tc -МИБИ пациента с диагнозом рак гортани Т3НОМ0. А – до химиотерапии: индекс О/подчел.жел. $_p=1,41$, индекс О/околоушн.жел. $_p=1,77$, О/скальп $_p=5,64$; Б – после 2-х курсов неoadъювантной химиотерапии: индекс О/подчел.жел. $_p=0,47$, индекс О/околоушн.жел. $_p=0,61$, О/скальп $_p=4,93$.

данными КТ и фиброларингоскопии, при выполнении которых визуально отмечалось уменьшение размеров опухоли. Кроме того, при морфологическом исследовании биопсийного материала у этих больных был отмечен лекарственный патоморфоз 3-4 степени. При этом индекс О/подчел.жел. $_p$ уменьшался с $0,73 \pm 0,37$ до $0,51 \pm 0,09$ ($p < 0,05$), индекс О/околоушн.жел. $_p$ – с $0,76 \pm 0,47$ до $0,46 \pm 0,19$ ($p = 0,06$), а индекс О/скальп $_p$ – с $5,81 \pm 2,98$ до $4,47 \pm 1,22$ ($p > 0,08$), что свидетельствует о возможности использования индекса О/подчел.жел. $_p$ для оценки эффективности неoadъювантной химиотерапии.

У 4 больных интенсивность накопления препарата в проекции опухоли оставалась на уровне исходного значения или отмечалось некоторое усиление гиперфиксации индикатора, что можно расценить как прогрессирование заболевания. Этот факт подтвердился при проведении контрольной фиброларингоскопии и компьютерной томографии.

Исследование показало, что ОЭКТ с ^{99m}Tc -МИБИ может применяться в диагностике злокачественных опухолей гортани. Однако необходимо определить место этого метода в диагностическом алгоритме и четко сформулировать показания и противопоказания к его проведению. У подавляющего большинства обследованных пациентов нам удалось обнаружить накопление индикатора в проекции новообразования, что свидетельствует о высокой чувствительности данного метода.

Хотя группа пациентов, получавших химиотерапию, немногочисленна, в ней четко прослеживается снижение накопления индикатора в опухоли. У 78% пациентов накопление ^{99m}Tc -МИБИ в очаге поражения снизилось в среднем на 30%.

Согласно результатам наших исследований, ОЭКТ с ^{99m}Tc -МИБИ практически не несет дополнительной информации о состоянии зон регионарного лимфооттока. В большой степени это связано с тем, что физиологическая гиперфиксация РФП в проекции щитовидной железы экранирует область регионарного лимфатического коллектора.

Таким образом, ОЭКТ с ^{99m}Tc -МИБИ может стать не только одним из дополняющих методов диагностики рака гортани и гортаноглотки, но и объективным методом оценки эффекта неoadъювантной химиотерапии. При этом наиболее информативным полуколичественным показателем определения результатов лечения является динамика индекса О/подчел.жел. $_p$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2000 г. М.: Медицина, 2002.
2. Strome SE, Weinman EC. Advanced larynx cancer. Curr. Treat. Options. Oncol. 2002; 3(1): 11-20.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2006 г. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2008; 19(2) (прил. 1).
4. Старинский В.В., Петрова Г.В., Грецова О.П., Харченко Н.В. Злокачественные новообразования в России в 1993-2002 гг. Материалы VIII Рос. онкол. конгр. М.: 2004. 105.
5. Старинский В.В., Петрова Г.В., Чиссов В.И. и др. Заболеваемость населения России злокачественными новообразованиями в 2000 г. Рос. онкол. журн. 2002; 3: 39-44.
6. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2010 году. М.:МНИОИ им. П.А. Герцена, 2011. 188.
7. Тицкая А.А., Чернов В.И., Слонимская Е.М., Синилкин И.Г. Сравнение результатов маммоцинтиграфии с ^{99m}Tc -Технитрилом в планарном и томографическом режиме. Медицинская радиология и радиационная безопасность 2008; 5: 53-57.
8. Тицкая А.А., Чернов В.И., Слонимская Е.М. и др. Маммоцинтиграфия с ^{99m}Tc -МИБИ в диагностике рака молочной железы. Сибирский медицинский журнал. 2010; 25(4): 92-95.
9. Тицкая А.А., Чернов В.И., Слонимская Е.М., Синилкин И.Г. Маммоцинтиграфия с ^{199}Tl в диагностике рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал 2008; 30(6): 5-10.
10. Koizumi K, Toyama K, Araki T. Uptake of Tc- 99m tetrafosmin, Tc- 99m MIBI and ^{201}Tl in tumour cell line. J Nuc Med. 1996; 37: 1551-1556.
11. Komori T, Narabayashi I, Tatsu Y, et al. Evolution of uptake and release of technetium- 99m MIBI SPECT of pulmonary and mediastinal lesions. Ann Nucl Med. 1997; 11: 227-232.
12. Scopinaro F, Schillaci O, Ussow W, et al. A three center study on the diagnostic accuracy of ^{99m}Tc -MIBI scintimammography. Anticancer Res. 1997; 17(3B): 1631-1634.
13. Braams JW, Pruim J, Freeling NJM, et al. Detection of lymph node metastases of squamous-cell cancer of the head and neck with FDG-PET and MRI. J Nucl. Med. 1995; 36: 211-216.
14. Leitha T, Glaser C, Pruckmayer M, et al. Technetium- 99m -MIBI in primary and recurrent head and neck tumors: Contribution of bone SPECT image fusion. J Nucl Med. 1999; 38: 1652-1657.

ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО СВОБОДНОГО АУТОТРАНСПЛАНТАТА НА ОСНОВЕ ПРЯМОЙ МЫШЦЫ ЖИВОТА У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Чиссов В.И., Решетов И.В., Кравцов С.А., Маторин О.В., Поляков А.П., Ратушный М.В., Филюшин М.М., Севрюков Ф.Е., Комаров А.В., Васильев В.Н.

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена

Контакт: Васильев В.Н. E-mail: vasilievvn@mail.ru

Цель. Предложен микрохирургический аутоотрансплантат на основе нижних эпигастральных сосудов, включающий кожу передней брюшной стенки, прямую мышцу живота и подлежащую париетальную брюшину.

Материалы и методы. У 7 больных злокачественными опухолями головы и шеи данный вид аутоотрансплантата использован для укрытия различных послеоперационных дефектов и изоляции жизненно важных структур от внешней среды и агрессивного воздействия слюны: после удаления опухоли кожи подбородочной области, преддверия рта с поражением кортикального слоя тела нижней челюсти; для укрытия обнаженной твердой мозговой оболочки в височной области; для устранения дефекта шеи и пищевода слева; устранения послеоперационных дефектов мягких тканей лица с резецированными костными структурами щеочно-околоушной области; укрытия магистральных сосудов руки и резецированных костных фрагментов.

Результаты. У всех больных послеоперационный период прошел без осложнений как со стороны желудочно-кишечного тракта, так и со стороны пересаженного аутоотрансплантата. Все больные питаются самостоятельно, прибавили в весе. Максимальные сроки наблюдения составили 2,5 года, минимальные – 2 месяца. Двое пациентов после корригирующих операций вернулись к работе.

Выводы. Результаты позволяют сделать вывод о возможности, а иногда и необходимости как первичной, так и вторичной пластики данным вариантом аутоотрансплантата.

Ключевые слова: париетальная брюшина, нижние эпигастральные артерия и вена, прямая мышца живота, аутоотрансплантат.

Заболееваемость злокачественными опухолями области головы и шеи неуклонно растет. Подавляющая часть пациентов обращается в специализированные учреждения на III и IV стадиях опухолевого процесса [1]. Рецидив и продолженный рост опухоли также ставят под вопрос возможность курательности и операбельности больных. В таких случаях лечение зачастую начинают с химио- или лучевой терапии [2]. Воздействуя как на опухолевую, так и на нормальную ткань, химио- и лучевая терапия необратимо

THE USE OF COMBINED FREE AUTOFLAP BASED ON RECTUS ABDOMINIS IN ONCOLOGICAL PATIENTS

Chissov VI, Reshetov IV, Kravtsov SA, Matorin OV, Polyakov AP, Ratushnyi MV, Filjushin MM, Sevrjukov FE, Komarov AV, Vasiliev VN

P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute

Contact: Vasiliev VN E-mail: vasilievvn@mail.ru

The purpose. A microsurgical autograft on the basis of inferior epigastric vessels, including the skin of the anterior abdominal wall, rectus muscle of the abdomen and subject to the parietal peritoneum.

Materials and methods. In 7 patients with malignant tumors of the head and neck used this type of graft to cover the different postoperative defects and after removal of tumors of the skin of the chin, vestibule mouth with a lesion of the cortical layer of the body of the mandible, plastic soft tissues of the right half naked person with shelter dura mater in the temporal region, removal of the defect of the neck and esophagus to the left, removal of postoperative soft tissue defects with resected bone structures gingivo-parotidarea, graft of plastic soft tissue elbow to cover hands and great vessels of the resected bone fragments.

Results. In all patients the postoperative period passed without complications, both for gastrointestinal tract and transplanted graft. All patients took food on their own, gaining weight. The maximum observation period amounted to 2.5 years, minimum 2 months. Two patients after corrective operations have returned to work.

Conclusion: The results obtained after clinical and anatomical studies, suggest the possibility, and sometimes the need to both primary and secondary plasty this option autograft.

Key words: parietal peritoneum, inferior epigastric vessels, rectus abdominis, autograft.

нарушают процессы клеточной регенерации и репарации, что приводит к росту послеоперационных осложнений [3]. Комбинированные и расширенные операции зачастую ведут к обнажению жизненно важных структур (магистральные сосуды, твердая мозговая оболочка, резецированные костные структуры), которые нуждаются в укрытии от внешнего воздействия и агрессивных сред, таких как слюна [2]. Наиболее часто для замещения дефицита тканей при свободной аутоотрансплантации используется лоскут из фартука большо-

дена рентгенотерапия в СОД – 45 Гр, закончена декабре 1996 г. с положительной динамикой. В мае 1997 г. отмечен продолженный рост опухоли, по поводу чего лечился самостоятельно, за медицинской помощью не обращался. В связи с ростом опухоли и появлением кровоточивости обратился в ОД по месту жительства, откуда для дообследования и лечения был направлен в МНИОИ им. П.А. Герцена.

Локально: ткани лица изменены за счет опухолевого образования подбородочной области. На коже подбородочной области определяется образование в виде язвы, до 6 см в наибольшем измерении, с неровными подрытыми краями, кровоточащая при контакте, инфильтрирующая окружающие мягкие ткани, обнажающая тело нижней челюсти. При пальпации регионарные группы лимфатических узлов не изменены.

Ультразвуковое исследование шеи, брюшной полости: в правой подчелюстной области определяется лимфатический узел с утолщенным венчиком, с большей долей вероятности гиперплазированный, размерами 11X11,3 мм, слева – гиперплазированный лимфатический узел, 14X9 мм. В средней трети шеи слева определяется лимфатический узел с гетерогенной структурой (постлучевые изменения?), размерами 11X5,5 мм, пунктирован. В мягких тканях шеи справа – без очаговой патологии.

КТ-исследовании лицевого отдела черепа: в коже подбородочной области имеется дефект, размерами 4,0X0,8 см, с деструкцией прилежащего отдела нижней челюсти (Рис. 1, 2).

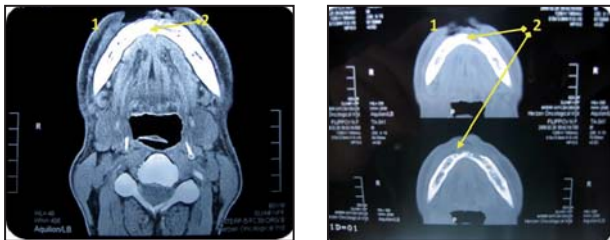


Рис. 1-2. 1 – опухолевый инфильтративно-язвенный дефект, 2 – деструкция нижней челюсти..

Цифровая рентгенография органов грудной клетки: в легочной ткани, тени органов средостения, корнях легких патологических изменений не выявлено. Плевральные синусы свободные.

В предоперационном плане больному была выполнена фотодинамическая диагностика и разметка границ опухоли (Рис 3, 4).

20.03.2008 г. больному была выполнена операция: удаление опухоли мягких тканей подбородочной области с одномоментной микрохирургической пластикой



Рис. 3-4. 1 – разметка согласно фотодинамической диагностике, 2 – опухолевый инфильтративно-язвенный дефект.

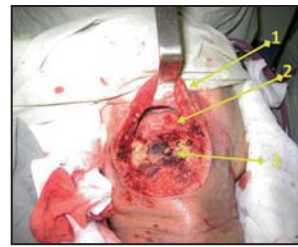


Рис. 5. 1–губа, 2–язык, 3–резецированная нижняя челюсть.



Рис. 6. УЗ-разметка прохождения нижних надчревных сосудов.

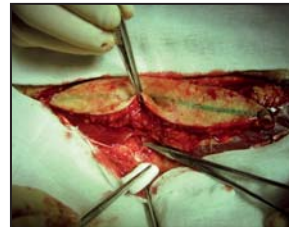


Рис. 7. Разрез передней брюшной стенки согласно необходимой кожной порции и формирование аутотрансплантата.

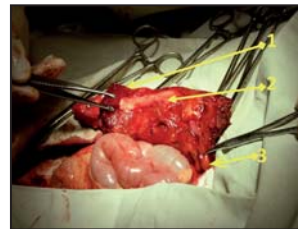


Рис. 8-9 1 – мышечная порция аутотрансплантата, 2 – фрагмент париетальной брюшины, 3 – Сосудистая ножка, состоящая из нижних эпигастральных сосудов.

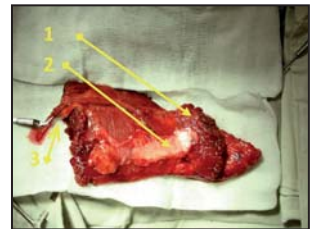


Рис. 10-11. Вид больного после операции.

кожно-мышечно-серозным лоскутом с включением волокон прямой мышцы живота (Рис. 5-11).

Послеоперационный период протекал без осложнений, микрохирургический аутотрансплантат адаптирован, операционная рана зажила первичным натяжением. На 6-е сутки начата активизация пациента. В раннем послеоперационном периоде питание производили через назо-гастральный зонд, который был удален на 12-е сутки (Рис. 12-13). Восстановлено питание через рот. На 13-е сутки в удовлетво-



Рис. 12-13. Вид больного на 10-е сутки после операции.

рительном состоянии больной выписан из стационара под наблюдение онколога и хирурга по месту жительства.

Гистологическое исследование №П63648-65/оп: четыре лимфатических узла без метастазов опухоли, гиперплазия лимфоидной ткани. В зоне внутренней поверхности описанного макроскопически дефекта циркулярно определяется инфильтративный рост базальноклеточного рака солидного строения, с изъывлением, очагами периневральной инвазии, с распространением в дерме и подкожной клетчатке, в основе слизистой оболочки с началом инвазии в подлежащие мелкие слюнные железы.

При контрольном исследовании через 3 мес. данных за продолженный рост опухоли или регионарное и отдаленное метастазирование не получено. Аутоотрансплантат полностью адаптирован (Рис. 14–17). Питание через рот в полном объеме. Прибавил в весе. Продолжается динамическое наблюдение. Больному с целью реабилитации предложена корригирующая операция, от которой больной отказался.



Рис. 14–17. Вид больного через 3 месяца после операции.

Пример исполнения второго варианта

Б-ая К., 58 лет. Клинический диагноз основной: рак щитовидной железы с метастазами в паратрахеальные лимфатические узлы шеи слева, состояние после хирургического лечения в 2000 г. Метастазы в лимфатических узлах шеи с обеих сторон, паратрахеальные и переднее-верхнего средостения, состояние после комплексного лечения (хирургического, ДЛТ СОД – 48 Гр и J131) в 2006–2007 гг. Продолженный рост метастазов в лимфатических узлах на шее слева. Состояние после хирургического лечения 08.2007 г. Состояние после реоперации на лимфопутях шеи слева 06.2008 г. Клинический диагноз сопутствующий: эзофагостома на шее слева. Парез левой половины гортани.

Жалобы при поступлении: на наличие дефекта на шее слева.

Анамнез: больной по поводу рака щитовидной железы с метастазами в лимфатических узлах паратрахеальной области слева в 2000 г. по месту жительства проведено хирургическое лечение – субтотальная резекция щитовидной железы (оставлен небольшой участок

ткани железы справа) с удалением паратрахеальных метастазов слева. В 2006 г. выявлены метастазы на шее с обеих сторон в паратрахеальных областях и передне-верхнем средостении. Госпитализирована в ОД по месту жительства, где 10.07.2007 г. больной выполнена операция: удаление лимфатических узлов и клетчатки на шее слева, пре- и паратрахеальной клетчатки с обеих сторон и переднее-верхнем средостении. 02.10.2007 больной выполнено хирургическое вмешательство в объеме удаления лимфатических узлов и клетчатки шеи справа. Гистологически во всех препаратах метастазы в лимфатических узлах папиллярного рака щитовидной железы. В послеоперационном периоде больной проведена дистанционная лучевая терапия 10.11.2006 в СОД – эквивалент 46–48 Гр. В дальнейшем больной проведен курс лучевой терапии 07.02.2007 г. и выявлены очаги накопления в передних отделах шеи. При контрольном обследовании выявлены метастазы в лимфоузлы шеи слева. Обратилась в МНИОИ. 08.08.2007 г. больной выполнена операция: реоперация на лимфатических путях шеи слева. Гистологическое исследование №П996-1002/оп: слева метастаз папиллярного рака щитовидной железы без инвазии за пределы капсулы узла. В двух лимфатических узлах клетчатки шеи бокового треугольника отмечается очаговый фиброз. План лечения больной обсужден на консилиуме с участием хирургов, радиологов, химиотерапевтов, рекомендована лучевая терапия радиоактивным йодом, которую больная не проводила. При контрольном исследовании выявлен рецидив метастазов на шее слева. Гистологическое исследование №1988/08 (пунктат паратрахеальной области слева): метастазы папиллярного рака щитовидной железы. На консилиуме с участием хирургов, радиологов, химиотерапевтов выработан хирургический план лечения. 06.06.2008 г. проведена операция: реоперация на лимфатических путях шеи слева. В послеоперационном периоде выявлен дефект стенки пищевода, который вероятнее всего был связан с предшествующим неоднократным лечением, в т. ч. с лучевой терапией, пролежнем от назо-гастрального зонда и недостаточности кровоснабжения стенки пищевода, в связи с чем 16.06.2008 больной выполнена операция: ревизия операционной раны на шее, пластическое оформление эзофагостомы. В связи с отсутствием при контрольном исследовании данных за рецидив и метастазы больная обратилась для реабилитации. На шее слева на фоне послеоперационных рубцов инфильтративной и опухолевой патологии не выявлено. На шее слева, на границе средней и нижней трети определяется сквозной дефект пищевода диаметром до 3 см, из которого поступает слюна (Рис. 18–19). Больной в плане реабилитации 23.09.2008 г. выполнена операция: отсроченная микрохирургическая реконструкция дефекта шеи слева кожно-мышечно-серозным лоскутом передней брюшной стенки слева (прямая мышца живота с включением брюшины) (Рис. 20–26).

Послеоперационный период протекал гладко. Признаков недостаточности кровоснабжения аутоотрансплантата



Рис. 18-19. Вид дефекта шеи слева.



Рис. 20. Вид планируемого кожного разреза.



Рис. 21. Вид ушитого собственными тканями пищевода и мобилизованной питающей ножки, состоящей из внутренних грудных сосудов слева.



Рис. 22. Разметка разреза передней брюшной стенки согласно необходимой кожной и мышечной порции.



Рис. 23-26. Этапы мобилизации лоскута: 1 – мышечная порция аутоотрансплантата, 2 – фрагмент париетальной брюшины, 3 – сосудистая ножка из нижних эпигастральных артерий и вены.

не выявлено. Активизация больной произведена на 6-е сутки (Рис. 27). На 13-е сутки удален назо-гастральный зонд, возобновлено питание через рот в полном объеме (Рис. 28). При контрольном обследовании через 3 мес. данных за рецидив опухоли или метастазы не выявлено (Рис. 29). Больной после контрольного обследования с целью реабилитации выполнена операция: коррекция лоскута на шее слева. При этом основной массив кожно-мышечной порции был удален, над ушитой эзофагостомой оставлена порция мышцы с брюшиной площадью 3Х3 см (Рис. 30). Больная полностью реабилитирована. Проводятся контрольные осмотры.



Рис. 27. Вид больной на 6-е сутки после операции.

Рис. 28. Вид больной на 13-е сутки после операции.

Рис. 29. Вид больной через 3 месяца.



Рис. 30. Вид больной после корригирующей операции.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех оперированных больных приживление аутоотрансплантата составило 100%, аутоотрансплантаты адаптированы, признаков нарушения микроциркуляции не выявлено. Одному больному после формирования аутоотрансплантата с целью профилактики послеоперационных осложнений потребовалось одномоментное укрепление передней брюшной стенки полипропиленовой сеткой. Максимальное время наблюдения составило 3 года, минимальное – 1 мес. Осложнений со стороны желудочно-кишечного тракта не выявлено ни у одного больного. У двух больных послеоперационный период осложнился серомами передней брюшной стенки, излеченными консервативными методами. Корректирующие операции выполнены четырем больным в сроки от 4 до 5 мес. после пластики. Четверо больных после последовательных корригирующих операций полностью реабилитированы и вернулись к работе.

Несмотря на небольшое число больных и время наблюдений, полученные результаты свидетельствуют о возможности и реальных перспек-

тивах использования метода аутоотрансплантации кожно-мышечно-серозного лоскута для реконструкции обширных послеоперационных дефектов в онкохирургической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2005 г. М.: 2006.
2. Решетов И.В., Чиссов В.И. Пластическая и реконструктивная микрохирургия в онкологии. М.: 2001.
3. Бардычев М.С., Цыб А.Ф. Местные лучевые повреждения. М.: 1985.
4. Решетов И.В. Реконструктивная и пластическая хирургия опухолей головы и шеи. Практическая онкология. 2003; 4 (1): 9-14.
5. Шаповалов С.Г. Использование сложных комплексов тканей на основе прямой мышцы живота при устранении деформаций передней грудной стенки у женщин (клинико-анатомические аспекты). Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. 2008; 3: 39-48.
6. Henri AH, Winters MD, Bouman MB, Boom F, Prose LP. The peritoneal free flap an anatomic study. Plastic Reconstructive Surgery. 1997; 100: 1168-1171.
7. Tregaskiss AP, Goodwin AN, Acland RD. The cutaneous arteries of the anterior abdominal wall, a three-dimensional study. Plastic Reconstructive Surgery. 2007; 120: 442-449.
8. Mixer RC, Mayfield K, Dibbel DG, Rao VK. Intraoral reconstruction with a microvascular peritoneal flap. Plastic Reconstructive Surgery. 1991; 88: 452.
9. Guiqing Liao, Yuxiong Su, Jinming Zhang, Jinsonng Hou. Reconstruction of the tongue with reinnervated rectus abdominis musculoperitoneal flaps after hemiglossectomy. Plastic Reconstructive Surgery. 2002; 109: 1592-1597.
10. Heitmann C, Felmerer G, Durmus C. et al. Anatomical features of perforator blood vessels in the deep inferior epigastric perforator flap. Plastic Reconstructive Surgery. 2000; 105: 205.

**МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ
НАРУШЕНИЯ ГОЛОСА ПРИ
ЭКСТРАФАСЦИАЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЯХ
НА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ**

Фуки Е.М., Трофимов Е.И., Губеев Р.И.

Научно-клинический центр оториноларингологии
ФМБА России

Контакт: Фуки Е.М. E-mail: fuki@yandex.ru

Аннотация: в статье рассмотрены нарушения голоса, вызванные повреждением двигательных нервов гортани при операциях на щитовидной железе, а также способы профилактики этих осложнений.

Материалы и методы. Нами проведен анализ результатов лечения 62 больных с узловой патологией щитовидной железы, находившихся в состоянии эутиреоза, у 12 из которых был верифицирован высокодифференцированный рак щитовидной железы. В зависимости от показателей послеоперационной электромиографии гортани пациенты были разделены на 2 группы: 1 – с патологическими признаками 16 (25,8%), 2 – без патологических проявлений 46 (74,2%).

Во время операции на щитовидной железе для обнаружения и сохранения гортанных нервов мы использовали электрофизиологический нейромониторинг (аппарат Neurosign 100) и/или оптическое увеличение при помощи операционного микроскопа.

Результаты. Используемые нами методы обнаружения гортанных нервов позволили идентифицировать возвратные во всех случаях и наружную ветвь верхнего гортанного нерва в 62 (82,9%) из 76 случаев.

До операции у 3 (4,8%) пациентов обнаруживались патологические изменения на электромиограмме гортани, которые после операции или усугубились, или остались практически без изменений. Через 6 месяцев после операции патологические изменения сохранились у 5 (8,1%).

Жалобы после операции на утомляемость голоса, потеря звучности, охриплость разной степени отмечали у 12 (75%) в 1 группе и у 6 (13%) 2 группы. Сохранились более 6 месяцев у 2 (12,5%) 1 группы.

При акустическом исследовании у 14 (87,5%) пациентов 1 группы отмечалось уменьшение максимальной частоты голоса более чем на 10% от исходной, уменьшение уровня звукового давления на высоких частотах на 5-10дБ, эти явления сохранялись более 6 месяцев у 6 (37,5%) 1 группы (рис. 8). Во 2 группе снижение максимальной частоты менее чем на 5% – у 25 (54,3%), на 5-10% – у 9 (19,6%), 10-20% – у 2 (4,3%). У 5 (10,8%) – 6 месяцев сохранялось снижение частоты более чем на 5%.

После операции у 4 (25%) больных первой группы голосовая складка пораженной стороны была опущена, укорочена, провисала при вдохе и делалась выпуклой на выдохе, что указывало на повреждение наружной ветви верхнего гортанного нерва у этих пациентов.

Выводы. Изменения голоса после тиреоидэктомии не должны игнорироваться, даже если стандартная непрямая ларингоскопия остается нормальной. Несмотря на то, что клиническая значимость наружной ветви верх-

**PREVENTION OF VOICE
DISORDERS FOR
EXTRAFASCIAL SURGERY
ON THYROID GLAND**

Fuki E.M., Trofimov E.I., Gubeev R.I.

Federal Scientific Clinical Center of Otorhinolaryngology
of Federal Medical Biological Agency of Russia,
the department of ENT-oncology

Contact: Fuki E.M. E-mail: fuki@yandex.ru

Voice disorders, caused by laryngeal motor nerve injuries for surgery on thyroid gland, and its prevention are discussed in the article.

Materials and methods. We analyzed treatment results in 62 patients with thyroid nodules with euthyroidism, among them 12 had high-differentiated thyroid cancer. According to the results of postoperative electromyography all patients were divided into 2 groups: group 1 – with pathological signs – 16 (25.8%), group 2 – without pathologic symptoms – 46 (74.2%) patients.

We used intraoperative electrophysiological neuromonitoring (by device Neurosign 100) and/or optical magnification by surgical microscope for detection and preservation of laryngeal nerves.

Results. Laryngeal nerves were identified by used techniques in all cases and external branch of superior laryngeal nerve was detected in 62 (82.9%) of 76 cases.

Prior to operation 3 (4.8%) patients had pathologic results of laryngeal electromyography, which were worse or unchanged after surgery. 6 months after operation pathologic changes remained in 5 (8.1%) patients.

In post-operative period complaints of voice fatigability, loss of sonority of voice, variable hoarseness were in 12 (75%) patients in group 1 and in 6 (13%) patients of group 2. They remained more than 6 months in 2 (12.5%) patients in group 1.

For acoustic measurements 14 (87.5%) patients in group 1 had decrease of maximal voice frequency more than 10% of baseline, decrease of level of sound pressure on high rates on 5-10 dB, these events remained more than 6 months in 6 (37.5%) patients of group 1. For group 2 decrease of maximal voice frequency more than 5% – in 25 (54.3%) patients, 5-10% – in 9 (19.6%), 10-20% – in 2 (4.3%). In 5 (10.8%) patients decrease of voice frequency more than 5% remained for 6 months.

After surgery in 4 (25%) patients of group 1 vocal cord of affected side was depressed, shortened, hanged down when breathing in and became dome-shaped when breathing out, these symptoms indicated on injury of external branch of superior laryngeal nerve.

Conclusion. Changes of voice after thyroidectomy should be taken into account, even with normal standard indirect laryngoscopy. Though clinical importance of external branch of superior laryngeal nerve stays in the background of recurrent laryngeal nerve, the need of its preservation is obvious. This branch should be identified as properly as for recurrent laryngeal nerve, to protect it from damage factors such as coagulation or ligation. One should be careful with cricothyroid, nearby laryngeal joints and prelaryngeal muscles.

него гортанного нерва остается в тени возвратного гортанного нерва, необходимость его сохранения очевидна. Во время операции её нужно также тщательно идентифицировать, как и возвратный нерв, тщательно предохранять от травмирующих факторов, таких, как коагуляция или лигирование. Следует бережно относиться и к перстнещитовидной мышце, и к рядом находящимся суставам гортани, и к предгортанным мышцам.

Статистически наиболее достоверным методом для определения состояния наружной ветви верхнего гортанного нерва и перстнещитовидной мышцы является ЛЭМГ, в то время как акустический анализ голоса и ларингостробоскопия – основные скрининговые процедуры при данной патологии.

Избежать повреждения гортанных нервов абсолютно у всех пациентов, по-видимому, невозможно, однако прецизионное выполнение операции с использованием интраоперационного нейромониторинга и послеоперационной фонопедической коррекции в значительной степени снижает вероятность стойких изменений голоса.

Ключевые слова: дисфония, нервы гортани, возвратный гортанный нерв, наружная ветвь верхнего гортанного нерва.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия отмечается увеличение частоты заболеваний щитовидной железы (ЩЖ), значительная часть которых требует хирургического лечения [1, 2].

Наиболее известным специфическим осложнением тиреоидной хирургии является изменение голоса после операции, что обычно ассоциируют с травмой возвратного нерва [2, 4, 5, 21]. Однако сохранение целостности возвратного гортанного нерва не гарантирует сохранение нормального голоса после вмешательства [22]. Изменение голоса в большинстве случаев обусловлено повреждением наружной ветви верхнего гортанного нерва (НВВГН) [11, 13, 15]. Согласно мнению F.H. Lahey (1932), частота повреждения возвратного гортанного нерва зависит от того, «насколько его хотят заметить». Еще в большей степени это утверждение справедливо для повреждения НВВГН [21]. Травма НВВГН при операциях на щитовидной железе составляет, по данным различных литературных источников, от 0 до 58% [15, 22, 23]. Различия в результатах отчасти объясняются разными хирургическими методиками, способами оценки состояния перстнещитовидной мышцы, а также, отчасти, желанием хирурга скрыть возникшее осложнение.

Верхний гортанный нерв отходит от нодозного узла блуждающего нерва, тотчас книзу от яремного отверстия. Дойдя кпереди до внутренней сонной артерии, он разделяется на 2 ветви [13]. Внутренняя, чувствительная ветвь иннервирует слизистую гортани выше голосовой щели. Наружная ветвь

The most statistically significant method for assessment of external branch of superior laryngeal nerve and cricothyroid muscle is laryngeal electromyography, acoustic study of voice and laryngostroboscopy are the main screening for this pathological condition.

To avoid injury of laryngeal nerve in all patients is unlikely to perform but precise surgery with intraoperative neuromonitoring and postoperative phonopedics decrease significantly the probability of permanent voice disorders.

Key words: dysphonia, laryngeal nerves, recurrent laryngeal nerve, external branch of superior laryngeal nerve.

верхнего гортанного нерва – двигательная, длиной 60–65 мм, следует вдоль нижнего констриктора и входит в перстнещитовидную мышцу [11, 15]. При сокращении этой мышцы щитовидный хрящ наклоняется кпереди, расстояние между ним и черпаловидными хрящами увеличивается, в результате чего голосовые складки натягиваются [8]. Нормальное функционирование перстнещитовидной мышцы особенно важно для образования высоких тонов женского голоса [9, 19].

Паралич перстнещитовидной мышцы может явиться судьбоносным ударом для тех лиц, чья карьера зависит от качества голоса и речи. В качестве примера можно привести всемирно известное колоратурное сопрано – Амелиту – Галли Курчи (Рис. 1). Медленно растущий узел щитовидной железы 15 лет угрожал её карьере. В 1935 г. под местной анестезией с интраоперационным контролем фонации, после тщательной идентификации, демонстрации и сохранения обоих возвратных нервов, удален зоб массой 170 г. После операции она отметила суже-

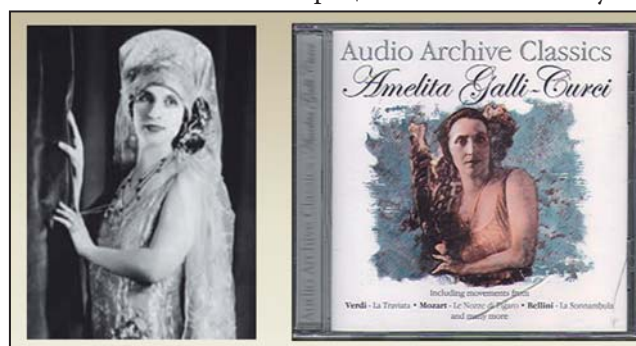


Рис. 1. Амелита – Галли Курчи

ние диапазона голоса за счет потери высоких нот до лирического сопрано. Несмотря на отсутствие ларингоскопических признаков пареза гортани, появилась незначительная охриплость [12]. Газетные критики написали, что «её удивительный голос пропал навсегда, взамен бархатного стал дрожащим, словно печальный призрак, умоляющий о реинкарнации» [7].

Повреждения НВВГН не могут быть достоверно выявлены при непрямой ларингоскопии или акустическом исследовании голоса [9, 17]. Для доказательной диагностики пареза перстнещитовидной мышцы желательное использование ларингеальной электромиографии (ЛЭМГ) и ларингостробоскопии [6, 14, 17].

Для предупреждения случайного повреждения НВВГН проводят его интраоперационную визуализацию [18, 22, 23]. Для облегчения обнаружения в операционной ране такой тонкой анатомической структуры удобно использовать в качестве ориентира верхнюю щитовидную артерию (ВЩА), которая пересекает нерв на различном расстоянии до верхнего полюса доли железы. В зависимости от этого расстояния выделяют 3 типа взаимоотношений этой артерии с НВВГН по Cernea et al. (1995) [10] и 4 типа по Kierner et al. (1998) [20] (Табл. 1).

Таблица 1

Классификации взаимоотношений наружной ветви верхнего гортанного нерва и верхней щитовидной артерии

Cernea et al.	Kierner et al.	Критерии
Тип 1 (68% мелкий зоб, 23% крупный зоб)	Тип 1 (42%)	Пересекает ВЩА > 1 см кверху от верхнего полюса ЩЖ
Тип 2а (11% мелкий зоб, 15% крупный зоб)	Тип 2 (30%)	Пересекает ВЩА < 1 см кверху от верхнего полюса ЩЖ
Тип 2б (14% мелкий зоб, 54% крупный зоб)	Тип 3 (14%)	Пересекает ВЩА под капсулой верхнего полюса ЩЖ
–	Тип 4 (14%)	Спускается кзади от артерии и пересекает ветви ВЩА непосредственно над верхним полюсом

Сообщения об идентификации НВВГН при вмешательствах на щитовидной железе единичны и встречаются, как правило, в иностранной литературе. Успешное выделение нерва отмечается в 33–93% наблюдений [10, 12, 18, 22, 23].

Целью исследования было определение функционального состояния НВВГН после хирургических вмешательств на ЩЖ, выполняемых с применением интраоперационного нейромониторинга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено лечение 62 больных с узловой патологией ЩЖ в состоянии эутиреоза, у 12 из которых был верифицирован высокодифференцированный рак щитовидной железы. Средний возраст пациен-

тов составил 42 года. Женщин было 47. В зависимости от показателей послеоперационной ЛЭМГ (на 7–10 сутки) пациенты были разделены на 2 группы: первая – с патологическими ЛЭМГ признаками (16, или 25,8%), из них 3 (4,8%) двухсторонние; вторая – без патологических проявлений (46, или 74,2%).

ЛЭМГ считается наиболее объективным методом определения состояния нервно-мышечного аппарата гортани [8, 9, 14]. Это исследование мы проводили при помощи аппарата Нейро-МВП-2 и соответствующего программного обеспечения. Биоэлектрические потенциалы регистрировали при помощи игольчатых электродов, введенных в перстнещитовидную мышцу. Электромиографию проводили в покое при спокойном дыхании, во время попыток фонации звуков разговорной частоты и максимально высокого «И» (Рис. 2).

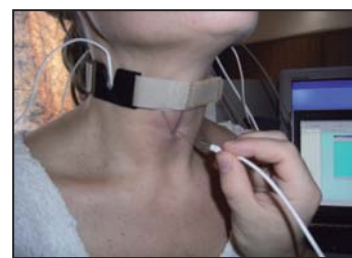


Рис. 2. Введение игольчатого электрода в перстнещитовидную мышцу.

В норме фонация сопровождается возникновением учащенной серии электрических импульсов, непрерывно следующих друг за другом. Потенциалы двигательных единиц с перстнещитовидной мышцы имеют амплитуду около 500 мВ и длительность 0,7 мс. Патологическими ЭМГ признаками являются: уменьшение или отсутствие потенциалов при попытках высокочастотной фонации; появление в покое позитивных острых волн, фибрилляции, полифазных волн. Обязательным было сравнение симметричности показателей правой и левой сторон. Изменения продолжительности, амплитуды и формы потенциалов двигательных единиц имели второстепенное значение.

Пациентам были выполнены хирургические вмешательства на ЩЖ в объеме от гемитироидэктомии до тироидэктомии, по показаниям – лимфодиссекция шеи. Во время операции для обнаружения и сохранения НВВГН мы использовали методы электрофизиологического нейромониторинга (Рис. 3, 4) и/или оптическое увеличение при помощи операционного микроскопа (Рис. 5, 6). Интраоперационная электронейромиография перстнещитовидной мышцы осуществлялась с применением аппарата Neurosign 100 (Великобритания).

Следует отметить, что хирургическое лечение было выполнено 65 больным, но 3 пациента исключены из анализа, т. к. у них отмечались явления пареза гортани вследствие повреждения возвратного гортанного нерва.

Всего подвергались хирургическому риску 76 НВВГН, из которых были найдены 62 (82,9%). Перед



Рис. 3. Внешний вид нейрохирургического монитора Neurosign 100.

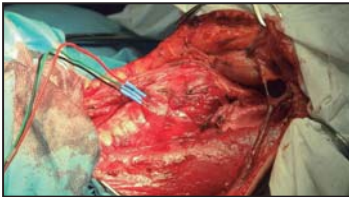


Рис. 4. Электрофизиологический нейромониторинг НВВГН – игольчатые электроды, введенные в перстнещитовидную мышцу.



Рис. 5. Идентификация гортанных нервов с помощью операционного микроскопа.

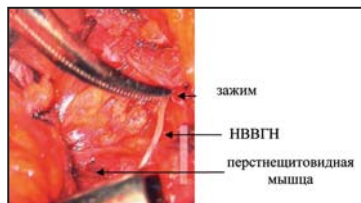


Рис. 6. Микроскопическая визуализация наружной ветви верхнего гортанного нерва.

и после операции (ближайшие результаты оценивали в первую неделю после операции, отдаленные – через 6 мес.) проводили комплексную оценку голосовой функции.

Тест-опросник «индекс качества голоса» (Voice handicap index), разработанный В.Н. Jacobson с соавт. [16], включает 30 вопросов, касающихся нарушений голоса. В зависимости от частоты появления беспокоящих изменений, их оценку проводят по пятибалльной шкале от 0 до 4 (0 – никогда; 1 – почти никогда; 2 – иногда; 3 – почти всегда; 4 – всегда). Следует отметить субъективность данного теста, результаты которого в большей степени зависят от восприятия своих проблем самим пациентом.

В соответствии с рекомендациями Союза европейских фониаТРов для оценки охриплости использовали шкалу балльной оценки по Yanagihara [24].

Мультипараметрическое акустическое исследование голоса проводили с помощью компьютерной программы Multi-Dimensional Voice Program (США). При акустическом анализе голоса определяли основную частоту и уровень звукового давления голоса, Jitter, Shimmer, HNR, время максимальной фонации, голосовое поле и речевой профиль.

Видеоларингостробоскопия позволяет оценить не только амплитуду движений голосовых складок, но и регулярность колебаний, наличие фазы закрытия, смещение слизистой оболочки по свободному краю голосовых складок, симметричность, амплитуду и частоту основного тона. Для оценки фонаторных колебаний использовали пятибалльную систему оценки голосовых складок, предложенную Г.Ф. Иванченко [3].

При наличии у пациентов изменений, подтвержденных объективными методами диагностики, проводили фонопедическую коррекцию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В предоперационном периоде у 3 (4,8%) пациентов обнаружены патологические ЛЭМГ проявления, которые после операции или усугубились, или остались практически без изменений (Рис. 7). Через 6 мес. после операции 6 человек отказались от повторной ЛЭМГ; выраженные патологические изменения сохранились у 5 (8,1%) (преимущественно у пациентов с двухсторонними изменениями).

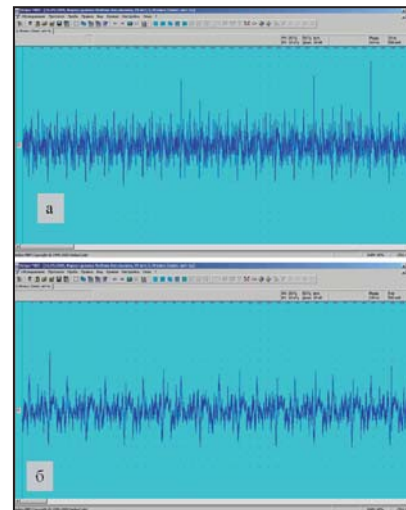


Рис. 7. Сравнение потенциалов двигательных единиц при фонации на высоких частотах: а – нормальная электрическая активность перстнещитовидной мышцы, б – со стороны операции отмечается уменьшение частоты потенциалов и отсутствие полного интерференционного паттерна.

Жалобы после операции на утомляемость голоса, потерю звучности, охриплость разной степени отмечали 12 (75%) пациентов первой группы и 6 (13%) – второй. Они сохранялись более 6 мес. у 2 (12,5%) пациентов первой группы.

«Индекс качества голоса» до операции составил в среднем $19,2 \pm 3,5$ баллов. Его оценивали через 2–3 и 6 мес. после операции. В первой группе он составил соответственно $64,5 \pm 4,1$ и $26,2 \pm 3,2$, во второй – $38,1 \pm 3,7$ и $8,3 \pm 1,2$.

При акустическом исследовании у 14 (87,5%) пациентов первой группы отмечалось уменьшение максимальной частоты голоса более чем на 10% от исходной, уменьшение уровня звукового давления на высоких частотах на 5–10 дБ. Эти явления сохранялись более 6 мес. у 6 (37,5%) пациентов первой группы (Рис. 8). Во второй группе снижение максимальной частоты менее чем на 5% отмечено у 25 (54,3%), на 5–10% – у 9 (19,6%), на 10–20% –

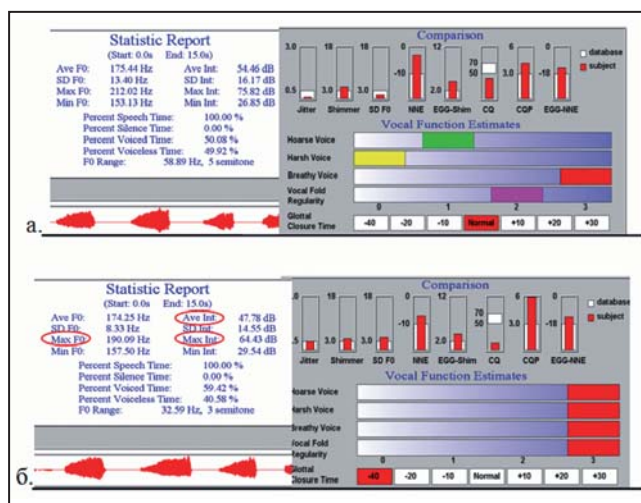


Рис. 8. Результаты акустического анализа голоса пациентки Ч. с клиническими признаками послеоперационного пареза НВВГН: а – до операции; б – на 14 сутки после операции; отмечается уменьшение показателя максимальной основной частоты голоса (Max F0), при практически неизменной средней частоте (Ave F0), уменьшение средней и максимальной силы голоса (Ave Int) и (Max Int).

у 2 (4,3%) обследованных. У 5 (10,8%) пациентов снижение частоты более чем на 5% сохранялось в течение 6 мес.

При видеоларингостробоскопии до операции суммарный индекс вибраторных нарушений составил 0,4. После операции в 1 группе на 7 сутки – 1,6, через 6 мес. – 1,1; во 2 группе на 7 сутки – 0,9, через 6 мес. – 0,2. У 4 (25%) больных первой группы голосовая складка пораженной стороны была опущена, укорочена, провисала при вдохе и делалась выпуклой на выдохе. Образовалась косая голосовая щель, её задние отделы смещены в пораженную сторону (Рис. 9). У этих больных отмечалась дыхательная охриплость.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменения голоса после тиреоидэктомии не должны игнорироваться, даже если стандартная непрямая ларингоскопия остается нормальной. Несмотря на то, что клиническая значимость НВВГН остается в тени возвратного гортанного нерва, необходимость его сохранения очевидна. Во время операции НВВГН нужно также тщательно идентифицировать, как и возвратный нерв, предохранять от таких травмирующих факторов, как коагуляция или лигирование. Следует бережно относиться и к перстнещитовидной мышце, находящимся рядом суставам гортани и к предгортанным мышцам.

Согласно полученным данным диагноз повреждения НВВГН не может быть основан исключительно на анализе голосового нарушения или видеоларингостробоскопии. Статистически достоверная корреляция наблюдается между уменьшением частоты голоса и патологическим ЛЭМГ. Другие неинвазивные диагностические методики

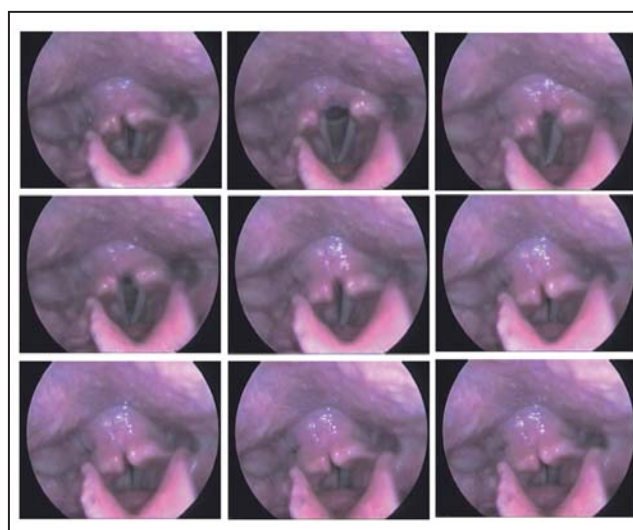


Рис. 9. Ларингоскопическая картина пареза левой НВВГН: провисание левой голосовой складки ниже уровня края правой, неполное смыкание складок ниже уровня края правой, неполноценность фазы закрытия. Приведение и отведение голосовых складок сохранено.

коррелировали с ЛЭМГ статистически на уровне тенденции. Наиболее достоверным методом для определения состояния НВВГН и перстнещитовидной мышцы является ЛЭМГ, в то время как акустический анализ голоса и ларингостробоскопия – основные скрининговые процедуры при данной патологии.

Избежать повреждения гортанных нервов абсолютно у всех пациентов, по-видимому, невозможно, однако прецизионное выполнение операции с использованием современных методик интраоперационного нейромониторинга и послеоперационной фонопедической коррекции в значительной степени снижает вероятность стойких изменений голоса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.О. Комплексная экспресс-диагностика и тактика хирургического лечения заболеваний щитовидной железы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М.: 1993; 38.
2. Камардин Л.Н., Бубнов А.Н. Современные направления в хирургическом лечении заболеваний щитовидной железы. Вопросы клинической хирургии органов эндокринной системы. Л.: 1987; 5-21.
3. Иванченко Г.Ф. Функциональная микрохирургия у больных с нарушением голоса при параличах и рубцовых деформациях гортани: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – М.: 1992; 26.
4. Трофимов Е.И., Иванченко Г.Ф., Дармаков В.В. и др. Коррекция стойких голосовых и дыхательных нарушений после хирургических вмешательств на щитовидной железе. Рак щитовидной железы и эндемический зоб. Материалы конференции. 2007; 137-138.
5. Черенько М.П. Осложнения при операциях на щитовидной железе. Киев: Здоровье. 1977; 110.
6. Abelson T.I., Tucker H.M. Laryngeal findings in SLN paralysis: a controversy. Arch Otolaryngology Head Neck Surgery. 1981; 89: 463-470.
7. Anonymous. Brave return [Music column]. Time. 1936; Dec. 7.

8. *Arnold G.E.* Physiology and pathology of the cricothyroid muscle. *Laryngoscope*. 1961; 71: 687-753.
9. *Beyer T.E.* Traumatic paralysis of the cricothyroid muscle. *Laryngoscope*. 1941; 51: 296-304.
10. *Cernea C.R., Nishio S., Hojaij F.C.* Identification of the EBSLN in large goiters. *Am. J. Otolaryngology* 1995; 16: 307-311.
11. *Durham C.F., Harrison T.S.* The surgical anatomy of the superior laryngeal nerve. *Surgery Gynecology Obstetrics*. 1964; 118: 38-44.
12. *Eisele D.W., Goldstone A.C.* Electrophysiologic identification and preservation of the superior laryngeal nerve during thyroid surgery. *Laryngoscope*. 1991; 101: 313-315.
13. *Furlan J.C., Brandao L.G., Ferraz A.R.* Surgical anatomy of the extralaryngeal aspect of the superior laryngeal nerv. *Arch Otolaryngology Head Neck Surgery*. 2003; 129: 79-82.
14. *Haglund S.* The normal electromyogram in human cricothyroid muscle. *Acta Otolaryngologica*. 1973; 75: 448-453.
15. *Hunt C.J.* The superior and inferior laryngeal nerve as related to thyroid surgery *Am. J. Surgery*. 1961; 27: 548-552.
16. *Jacobson B.H., Johnson A., Grywalski C.* The Voice Handicap Index (VHI): Development and Validation. *Am. J. Speech-Language Pathology*. 1997; 6: 66-70.
17. *Jansson S., Tisell L., Hagne I.* Partial SLN lesions before and after thyroid surgery *World J. Surgery*. 1988; 12: 522-527.
18. *Jonas J., Bahr R.* Neuromonitoring of the EBSLN during thyroid surgery. *Am. J. Surgery*. 2000; 179: 234-236.
19. *Kark A.E., Kissin M.W., Auerbach R.* Voice changes after thyroidectomy: role of the external laryngeal nerve. *Brit. Med. J.* 1984; 289: 1412-1415.
20. *Kierner A.C., Aigner M.* The EBSLN: its topographical anatomy as related to surgery of the neck. *Arch. Otolaryngology Head Neck Surgery*. 1998; 124: 301-303.
21. *Lahey F.H.* Operative injury to the recurrent laryngeal nerve. *Surgical Clinics. North. America*. 1932; 12: 839-848.
22. *Lennquist S., Cahlin C., Smeds S.* The superior laryngeal nerve in thyroid surgery. *Surgery*. 1987; 102: 999-1008.
23. *Lore J.M., Kokocharov S.I., Kaufman S.* 38-year evaluation of a surgical technique to protect the EBSLN during thyroidectomy. *Ann. Otolaryngology. Rhinology. Laryngology*. 1998; 107: 1015-1022.
24. *Yanagihara N.* Significance of harmonic changes and noise components in hoarseness. *J. Speech. Hearing. Res.* 1967; 30: 531-541.

**ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ
В СОЧЕТАНИИ С ПРОТОЧНОЙ
ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИЕЙ**

Волченко Н.Н., Славнова Е.Н.

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Минздрава России, Москва, Россия

Контакты: Славнова Е.Н. E-mail: mnaioict@mail.ru

Целью исследования явилось определение роли цитологического метода в сочетании с проточной цитофлюориметрией в иммунофенотипировании и диагностике лимфом.

Материалы и методы исследования. Авторами выполнены цитологические исследования в сочетании с методами проточной цитофлюориметрии и иммуноцитохимии у 81 больного с лимфомами. Для типирования лимфом использовали следующую панель антител: CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD15, CD19, CD20, CD21, CD23, CD30, CD34, CD38, CD43, CD45, CD56, CD57, CD79a, CD138, HLA-DR, FMC-7, TdT, bcl-2, Cyclin D1, Ki-67, ЭМА, легкие цепи иммуноглобулинов (каппа и лямбда).

Результаты. Точность предложенной комбинации методов в установлении диагноза злокачественной лимфомы на цитологическом материале аспирационных тонкоигольных биоптатов составляет 98%, а в определении иммунофенотипа – 90%.

Выводы. Представленная комбинация рутинного цитологического метода в сочетании с методами проточной цитофлюориметрии и иммуноцитохимии является экспресс-методом, позволяющим установить диагноз лимфомы и ее иммунофенотип в день обращения больного к врачу, что значительно повышает роль цитологического метода в диагностике лимфом. Методика позволяет исследовать одновременно большое количество глубоко расположенных и поверхностных лимфатических узлов.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, проточная цитофлюориметрия, иммуноцитохимия, цитологическая диагностика.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время наблюдается рост удельного веса тонкоигольных пункционных биопсий лимфатических узлов, выполняемых, как правило, под контролем ультразвукового исследования (УЗИ). Такой способ получения клеточного материала предполагает использование цитологического исследования, являющегося высокоточным, экономически выгодным методом диагностики, отличающимся отсутствием осложнений. Наиболее очевидное достоинство этого метода забора клеточного материала заключается во взятии биоптатов из глубоко расположенных лимфатических узлов без использования хирургического вмешательства. Большинство гистологов исследуют по-

**THE ROLE OF FLOW
CYTOFLUOROMETRY
IN CYTOLOGICAL DIAGNOSTICS
OF NON-HODGKIN LYMPHOMAS**

Volchenko N.N., Slavnova E.N.

P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow, Russia

Contact: Slavnova E.N. E-mail: mnaioict@mail.ru

The objective. To determine the role of cytological method combined with flow cytofluorometry in immunophenotyping and diagnostics of lymphomas.

Materials and methods. Cytological study combined with flow cytofluorometry and immunocytochemistry were performed in 81 patients with lymphomas. For typing of lymphoma we used antigen panel as follows: CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD15, CD19, CD20, CD21, CD23, CD30, CD34, CD38, CD43, CD45, CD56, CD57, CD79a, CD138, HLA-DR, FMC-7, TdT, bcl-2, Cyclin D1, Ki-67, EMA, kappa and lambda light chains of immunoglobulins.

Results. The accuracy of supposed combination of methods for diagnosis of malignant lymphoma on cytological specimen of fine needle aspiration was 98%, and for immunophenotype detection – 90%.

Conclusion. The supposed combination of routine cytological method with flow cytofluorometry and immunocytochemistry is short-term test which allows to diagnose lymphoma and to determine its immunophenotype at the date of visit to doctor, improves the role of cytological method in diagnosis of lymphoma. The technique allows to study a large number of superficial and deep lymph nodes simultaneously.

Key words: non Hodgkin lymphoma, flow cytofluorometry, immunocytochemistry, cytological diagnostics.

верхностные лимфатические узлы. Однако наш опыт и данные литературы [8, 14, 20] показывают, что точный диагноз может быть получен при исследовании большого количества поверхностных и глубоко расположенных лимфатических узлов с помощью пункционной биопсии. Этот метод становится все более распространенным ввиду легкости получения материала и низкой частоты осложнений. Преимущества тонкоигольной пункционной биопсии под контролем УЗИ:

- не требуется госпитализация больного;
- практически отсутствуют осложнения;
- осуществляется прицельно и позволяет изучить максимально измененные глубоко расположенные и поверхностные лимфатические узлы;

- при неудовлетворительной или малоклеточной тонкоигольной биопсии ее можно многократно повторить;
- возможность получения дополнительного клеточного материала для молекулярно-генетических, иммуноцитохимических и цитологических исследований;
- максимальная быстрота проведения исследования – по сути, экспресс-диагностика.

Недостатками тонкоигольной аспирационной биопсии могут быть неудачная пункция и недостаточное количество клеточного материала.

Благодаря успехам иммуноморфологии и использованию молекулярно-генетического метода, в изучении опухолей лимфоидной системы достигнут значительный прогресс [9, 11, 12, 16, 17, 21]. Это отражается в последовательной смене классификаций опухолей. С 1956 г. сменилось несколько классификаций лимфом, первую из которых, базировавшуюся только на морфологических данных, опубликовал Н. Раррпорт. На смену морфологическому подходу пришли иммуноморфологический и молекулярно-генетический подходы, составляющие основу REAL (1994) (Ревизованная Европейско-американская классификация лимфоидных опухолей), и классификаций ВОЗ (1997, 2001, 2008) [1–4, 16].

В основе современной классификации опухолевых заболеваний лимфоидной системы ВОЗ лежат представления о стадиях дифференцировки лимфоидных клеток [16]. В большинстве случаев опухолевые клетки являются аналогами нормальных клеток, т. е. экспрессируют те же антигены, которые появляются на мембране или в цитоплазме клеток в процессе их дифференцировки на различных этапах созревания. Сходство между опухолевыми и нормальными клетками позволяет установить линейность (В или Т/НК клеточные) и стадию созревания патологических клеток, что необходимо для классификации, диагноза и прогностической оценки течения лимфомы. Каждой стадии дифференцировки гемопоэтических клеток соответствует свой набор дифференцировочных антигенов, разделенных на кластеры дифференцировки, обозначенные CD. Это обозначение принято в 1982 г. в Париже на I рабочем совещании по созданию единой номенклатуры моноклональных антител (МАТ), на котором МАТ со сходной специфичностью были объединены в группы – кластеры. Со временем «кластер дифференцировки» стал обозначать саму структуру на клеточной мембране, отражающую фенотип клетки. К настоящему времени известно более 247 антигенных структур-CD, локализованных на мембране клеток различных ростков гемопоэза. Совокупность таких молекул отражает фенотип опухолевых клеток и позволяет установить их линейную принадлежность, стадию дифференцировки, метаболическую и пролифера-

тивную активность [4–6]. В соответствии с последней классификацией ВОЗ (2008) при диагностике лимфом особенно важно определение иммунофенотипа клеток опухоли, так как этим определяется дальнейшее лечение и прогноз заболевания.

Иммунофенотип клеток опухолей лимфоидной ткани можно определить различными способами и, прежде всего, проточной цитофлюориметрией, иммуноцитохимическим или иммуногистохимическим исследованием [4, 7, 8, 10, 13, 16, 19, 22]. Одним из перспективных способов является проточная цитофлюориметрия, в основе которой лежит проведение фотометрических и флуоресцентных измерений отдельных клеток, пересекающих одна за другой вместе с потоком жидкости лазерный луч монохроматического света. Преимуществами проточной цитофлюориметрии являются: исследование большого количества клеток за минимальное время (более 10000 клеток за 1 сек); возможность их сортировки по молекулярным свойствам; одновременное изучение нескольких антигенных структур на одной клетке.

Внедрение проточной цитофлюориметрии, иммуноцитохимии в сочетании с цитологическим исследованием полноценных тонкоигольных биоптатов позволяет не только максимально быстро и безопасно для больного установить диагноз лимфомы, но и определить ее иммунофенотип [10, 13, 14, 18, 19, 22].

Целью настоящего исследования явилось определение роли цитологического метода в сочетании с проточной цитофлюориметрией в иммунофенотипировании и диагностике лимфом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили тонкоигольные аспирационные биоптаты лимфатических узлов у 81 больного с лимфомами, полученные под контролем УЗИ. Часть клеточного материала, полученного при пункции, помещали на предметные стекла, окрашивали азур-эозиновыми смесями и подвергали рутинному цитологическому исследованию. Большую часть клеточного материала помещали в специальную питательную среду и использовали для проведения проточной цитофлюориметрии и иммуноцитохимии. Иммунофенотипирование проводили на проточном цитофлюориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Клеточные суспензии окрашивали моноклональными антителами с 2-х и 3-х цветными флуоресцентными метками (производства Becton Dickinson, США; DACO, Дания) с последующей отмывкой от не связавшихся антител. Окрашенные клетки вводили в проточный цитофлюориметр, где они пересекали лазерный луч. В результате возбуждения окрашенные клетки флуоресцировали и испускали свет определенной длины, который регистрировался проточным цитофлюориметром.

Анализ проводили с помощью специальной компьютерной программы Cell Quest. Параллельно проводили иммуноцитохимическое исследование методом Ultra Vision. Для типирования лимфом использовали следующую панель антител: CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD15, CD19, CD20, CD21, CD23, CD30, CD34, CD38, CD43, CD45, CD56, CD57, CD79a, CD138, HLA-DR, FMC-7, TdT, bcl-2, Cyclin D1, Ki-67, ЭМА, легкие цепи иммуноглобулинов (каппа и лямбда).

После тонкоигольной аспирационной биопсии, в случае установления цитологического диагноза лимфомы в утвердительной или предположительной форме, проводили иммунофенотипирование методом проточной цитофлюориметрии. При дифференциальной диагностике лимфаденопатий неясного генеза и В-клеточных лимфом основным признаком злокачественности является клональность, которая может быть установлена при наличии одного типа легких цепей иммуноглобулинов (каппа или лямбда) на опухолевых клетках (Рис. 1).

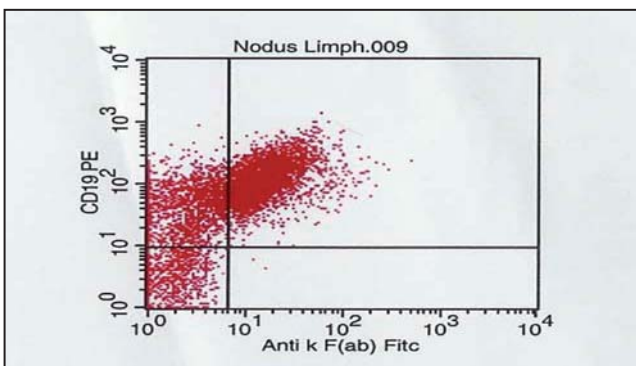


Рис. 1. В-клеточная лимфома: определяется клональность опухолевых клеток по наличию легких цепей иммуноглобулинов каппа на CD19 – положительных опухолевых клетках. Проточная цитофлюориметрия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обычный рутинный цитологический метод исследования лимфатических узлов решает важную задачу, определяющую дальнейшую тактику обследования и лечения больного.

Основные цитологические признаки лимфом хорошо известны. Это:

- высокая клеточность препарата;
- «грязный» фон мазка, наличие большого коли-

чества «голых» ядер, нитей ядерного детрита, «отшнурование» цитоплазматических глобул;

- мономорфность цитологической картины с редко выявляемыми реактивными фоновыми изменениями;

- для бластных вариантов характерно наличие полей как сохранившихся, так и полуразрушенных бластных клеток, могут определяться митозы;

- при небластных вариантах лимфом, в отличие от гиперплазий, характерны скопления-«слепки» разрушенных опухолевых клеток, митозы не наблюдаются.

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ В-КЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОМ

В-клеточные лимфомы диагностированы в 66 наблюдениях. Определены их характерные иммунофенотипы (Табл. 1).

Хронический лимфоцитарный лейкоз/В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов диагностирован у 10 больных. При хроническом лимфолейкозе цитограмма достаточно мономорфна, основной тип клеток составляют малые лимфоциты, имеющие скудную цитоплазму и округлое ядро с грубым комковатым хроматином, ядрышки не определяются. На этом фоне в небольшом количестве могут встречаться и более крупные клетки среднего (пролимфоциты) и крупного размеров. Следует иметь в виду наличие варианта лимфомы с плазмоцитоподобной дифференцировкой, при этом опухолевые клетки будут иметь ядра неправильной формы и более обильную цитоплазму. Проведенное иммунофенотипирование с помощью ПЦФ позволило в 10 наблюдениях верифицировать В-клеточную лимфому из малых лимфоцитов, иммунофенотип которой характеризуется экспрессией пан-В-клеточных маркеров CD19, CD20 и CD79a, а также коэкспрессией CD5 и CD23. В отличие от фолликулярной лимфомы отсутствует экспрессия CD10. Отсутствие экспрессии Cyclin D1 позволяет проводить дифференциальную диагностику с лимфомой из клеток зоны мантии.

Лимфома из клеток мантии диагностирована у 6 больных. Цитограмма лимфом из клеток мантии представлена клетками небольшого или среднего размера с неправильными контурами ядер, напо-

Дифференциальная диагностика В-клеточных лимфом при иммунофенотипировании								Таблица 1
Гистологический тип лимфомы	Антиген							
	Пан-В (CD20, CD79a, CD19)	bcl-2	CD5	CD10	CD23	Cyclin D1	FMC7	Другие
Хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов	+	+	+	-	+	-	+	CD38 +/-
Лимфома из клеток зоны мантии	+	+/-	+	-	-	+	+	
Фолликулярная лимфома	+	+/-	-	+	-/+	-	+	
Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома	+	+/-	-/+	-/+	-	-	+	CD30 -/+
MALT-лимфома	+	+	-	-	-/+	-	+	bcl-10 -/+ в остатках фолликулов

Примечание: (+/-) – 90% случаев позитивны; (-/+) – 10% случаев позитивны

минающими centroциты. Хроматин умеренно плотный, ядрышки малозаметны. Центробласты и иммунобласты не встречаются. В целом клеточная картина достаточно мономорфна и напоминает хронический лимфоцитарный лейкоз или лимфому из малых лимфоцитов. Следует иметь в виду, что существует несколько морфологических вариантов лимфомы из клеток мантии: классический, мелкоклеточный, бластоидный (крупноклеточный) и плеоморфный. Трудности морфологической диагностики в установлении типа лимфомы могут возникнуть при бластоидном варианте лимфомы из клеток мантии. Разнообразие морфологических вариантов определяет необходимость проведения иммунофенотипирования для установления данного типа лимфомы. При проведении иммунофенотипирования с помощью ПЦФ клетки опухоли экспрессируют пан-В-клеточные антигены CD19, CD20 и CD79a, а также CD5; отсутствует экспрессия CD23 и CD10. Иммуноцитохимически определяется гиперэкспрессия Cytlin D1в ядрах опухолевых клеток.

При **фолликулярной лимфоме** (20 больных) цитограмма представлена двумя типами опухолевых клеток: centroцитами и центробластами (Рис. 2). Centroцит – клетка несколько крупнее малого лимфоцита, с неправильным ядром, имеющим глубокую выемку (расщелину); встречаются угловатые ядра с неровными волнистыми краями ядерной мембраны. Ядра светлые, ядрышки практически неразличимы. Центробласт – клетка, в 2-3 раза превосходящая размерами малый лимфоцит – имеет округло-овальное ядро с 2-3 хорошо различимыми ядрышками, расположенными у края ядерной мембраны. Цитоплазма узкая, слабобазофильная, может быть вакуолизирована. В классификации ВОЗ фолликулярные лимфомы разделяют на три степени злокачественности в зависимости от числа центробластов, подсчитанных в 10 или 1 поле зрения гистологического препарата при большом увеличении микроскопа (X40): 0-5 центробластов в поле зрения – 1 степень злокачественности; 6-15 – 2 степень злокачественности; более 15-3 степень злокачественности.

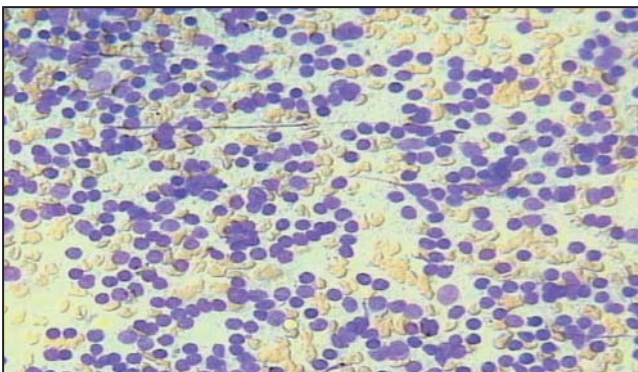


Рис. 2. Фолликулярная лимфома 1 степени злокачественности. Окраска по Лейшману (X10).

При определении иммунофенотипа опухолевых клеток фолликулярной лимфомы с помощью ПЦФ наблюдается экспрессия пан-В-клеточных маркеров CD19, CD20 и CD79a, а также CD10 (Рис. 3, 4). Отсутствует экспрессия CD5 и CD23. Иммуноцитохимически определяется экспрессия белка антагониста апоптоза bcl-2 (Рис. 5). Данную особенность можно использовать для дифференциальной диагностики фолликулярной лимфомы и фолликулярной гиперплазии, при которой центры фолликулов негативны по bcl-2.

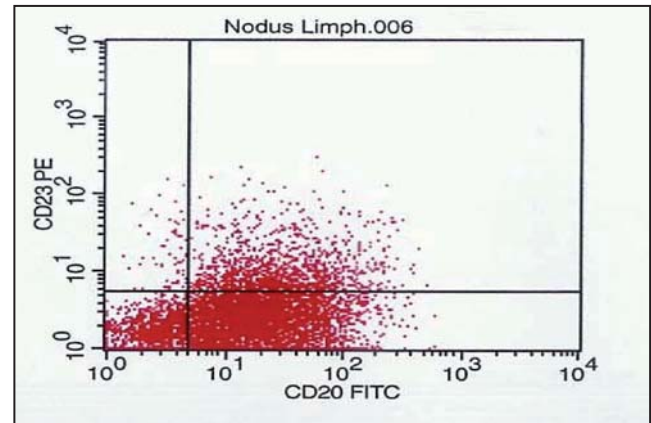


Рис. 3. Выраженная экспрессия В-клеточного маркера CD20 клетками фолликулярной лимфомы. Проточная цитофлуориметрия.

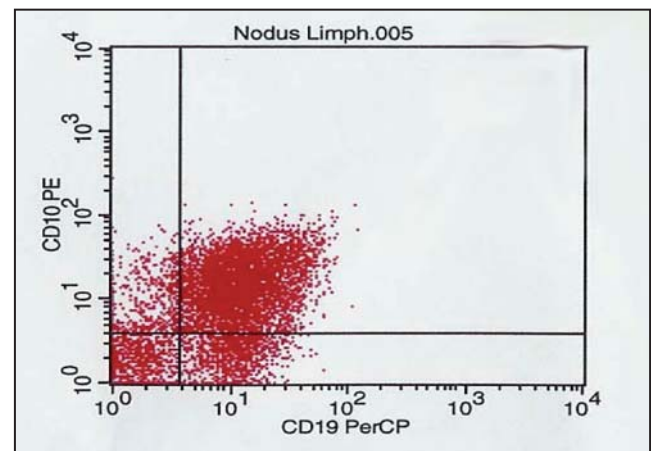


Рис. 4. Козэкспрессия В-клеточного маркера CD19 и CD 10 клетками фолликулярной лимфомы. Проточная цитофлуориметрия.

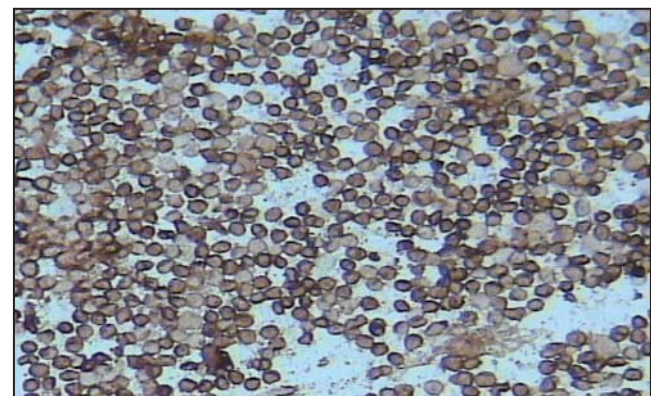


Рис. 5. Выраженная экспрессия bcl-2 при фолликулярной лимфоме. Иммуноцитохимия (X10).

При **диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме** (27 больных) цитограмма представлена различными крупными лимфоидными клетками, в среднем в 2 и более раз превышающими размер малого лимфоцита: центробластами, иммунобластами, клетками с многодольчатыми ядрами. Цитологически данный тип лимфомы отличается выраженным полиморфизмом, что позволяет выделить несколько морфологических вариантов: центробластный, иммунобластный, лимфома с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов, анапластический. Центробластный тип – опухоль состоит из крупных лимфоидных клеток с везикулярной структурой хроматина, 2–4 ядрышками, расположенными у ядерной мембраны, и умеренно развитой цитоплазмой, окрашенной базофильно; иммунобластный – более 90% опухолевых клеток представлены иммунобластами, ядра которых имеют одно центрально расположенное крупное ядрышко и базофильную цитоплазму. Лимфома с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов содержит менее 10% опухолевых В-лимфоцитов, имеющих вид центробластов, иммунобластов или клеток, напоминающих клетки Березовского-Штернберга (Рис. 6). При данном типе лимфомы важна как ее морфологическая диагностика, так и проведение иммунофенотипирования. Опухолевые клетки экспрессируют CD20, а реактивные малые Т-лимфоциты – CD3. Анапластический вариант представлен крупными овальными, круглыми, угловатыми клетками с плеоморфными ядрами, имеющими сходство с клетками Березовского-Штернберга. Иногда цитограмма может напоминать метастаз недифференцированного рака.

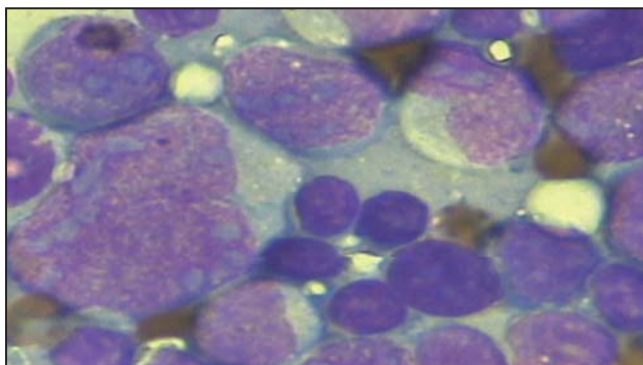


Рис. 6. Диффузная В-крупноклеточная лимфома, анаплазированный вариант. Окраска по Лейшману (X100).

Иммунофенотип опухолевых клеток диффузной крупноклеточной лимфомы характеризуется экспрессией пан-В-клеточных антигенов – CD19, CD20, CD79 α (рис. 7, 8). При анапластическом варианте большинство клеток экспрессируют CD30, в прочих вариантах он отсутствует. 50% диффузных крупноклеточных лимфом экспрессируют CD10, в 10% эти лимфомы CD5 положительные. Во всех случаях Cyclin D1 не экспрессируется, отмечается высокая пролиферативная активность, Ki-67 экспрессируют 40–90% опухолевых клеток (рис. 9).

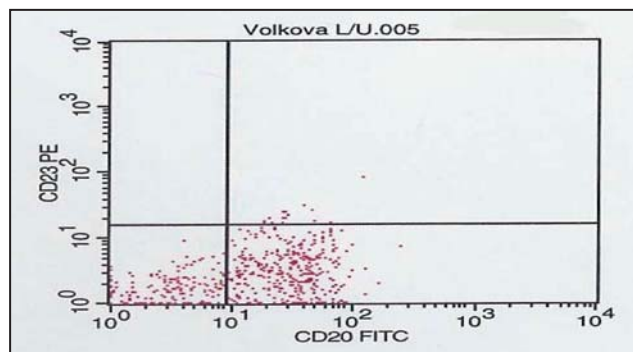


Рис. 7. Экспрессия В-клеточного маркера CD20 клетками диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Проточная цитофлюориметрия.

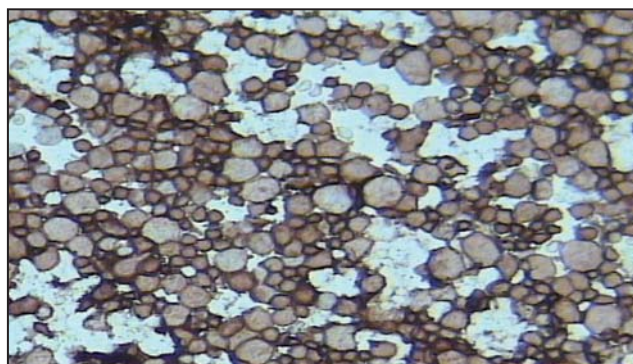


Рис. 8. Экспрессия В-клеточного маркера CD20 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Иммуноцитохимия (X10).

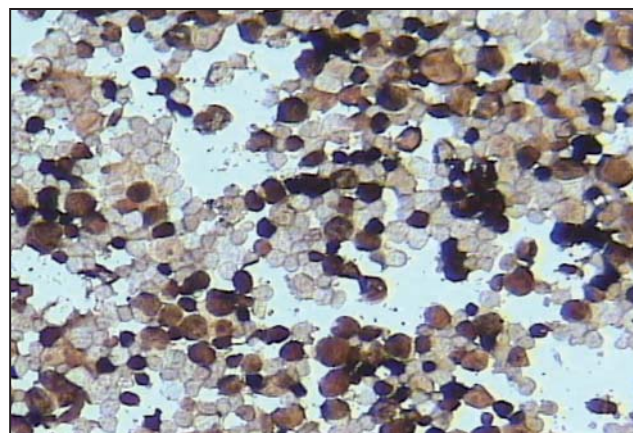


Рис. 9. Высокая пролиферативная активность: экспрессия 70% опухолевых клеток Ki-67 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Иммуноцитохимия (X10).

Экстранодальная лимфома В-клеточная маргинальной зоны, связанная с лимфоидной тканью слизистых оболочек (mucosa-associated lymphoid tissue), MALT-лимфома (3 больных) может возникнуть в желудке, легких, слюнной железе, орбите, щитовидной и молочной железах. До половины MALT-лимфом возникают в желудке. В нашем исследовании были MALT-лимфомы желудка, слюнной железы, орбиты. Цитологически опухоль достаточно сложно диагностировать, поскольку она представлена centrocyte-like cells преимущественно мелкого, реже среднего размера с неправильным контуром ядерной мембраны, умеренно плотным хроматином, малозаметным ядрышком,

небольшим ободком бледноокрашенной цитоплазмы. Возможна незначительная примесь больших клеток типа центробластов и иммунобластов, что может облегчить цитологическую диагностику.

Иммунофенотипически опухолевые клетки экспрессируют поверхностные иммуноглобулины, CD20 и CD79α, негативны к CD5, CD10, CD23, циклину D1; окраска на bcl-10 позитивна в 1/3 случаев. Обращает внимание невысокий уровень пролиферативной активности (Ki-67 до 20%).

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ Т-КЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОМ

Т-клеточные лимфомы верифицированы у 14 больных. Определены характеризующие их иммунофенотипы (Табл. 2).

Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная, названа так в связи с отсутствием каких-либо характерных клинико-морфологических черт (8 больных). В цитологическом препарате преобладают клетки крупного и среднего размеров с неправильной формой ядер, хроматин мелкодисперсный или гиперхромный, определяются ядрышки. Встречались клетки со светлой цитоплазмой и сходные с клетками Березовского-Штернберга. Имеются варианты, где основную массу составляют клетки мелкого размера. Полиморфноклеточный вариант включает реактивные изменения: отмечается пролиферация эозинофилов, плазматических клеток, эпителиоидных гистиоцитов. При периферических Т-клеточных лимфомах иммунофенотип характеризуется экспрессией Т-клеточных антигенов: CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD45RO. В некоторых случаях возможна утрата некоторых из них. В крупных клетках может определяться CD30.

Анапластическая крупноклеточная лимфома (6 случаев). Описаны три морфологических варианта анапластической крупноклеточной лимфомы: классический, лимфогистиоцитарный и мелкоклеточный. Обязательным является наличие «диагностических» клеток с эксцентрично расположенным ядром подковообразной или почкообразной формы крупного размера и эозинофильно окрашенной зоной в парануклеарной области цитоплазмы. В некоторых клетках могут наблюдаться инвагинации цитоплазмы в ядро, при этом ядро может напоминать бублик. Встречаются многоядерные клетки, причем ядра могут располагаться в виде венка по периферии цитоплазмы; иногда многоядерные клет-

ки напоминают клетки Березовского-Штернберга. В ядрах определяются ядрышки. Диагностика крупноклеточной анапластической лимфомы невозможна без иммунофенотипирования. Опухолевые клетки экспрессируют Т-клеточные антигены – CD3, CD2, CD7, CD45RO, а также CD30. Иммуноцитохимически опухолевые клетки позитивны к ЕМА. В двух случаях определялся CD15. Возможна утрата части антигенов или даже всех из них, что приводит к тому, что опухоль по данным иммуноцитохимии имеет «нулевой» иммунофенотип (одно наблюдение). В 60–85% АКЛ выявляется белок ALK1 (киназа анапластической лимфомы), появление которого связано с цитогенетической аномалией – транслокацией между 2-й и 5-й хромосомами.

В одном наблюдении у мальчика 16 лет диагностирована **Т-клеточная лимфобластная лимфома**. Цитограмма отличалась относительно мономорфным клеточным составом. В мазке обнаружены бластные клетки округлой или овальной формы с узким ободком умеренно базофильной цитоплазмы, не содержащей зернистости. Ядерный хроматин мелкогландулярный или более плотной консистенции. В ядрах одно-два крупных ядрышка. По диаметру клеток выделяют мелкоклеточную (8–12 мкм) и крупноклеточную формы (12–15 мкм). Обычно в препарате определяются оба типа клеток с преобладанием одного из типов. У данных больных преобладали микролимфомасты, более крупные клетки встречались в небольшом количестве. При проведении иммунофенотипирования выявлялся TdT, экспрессировались CD3, CD4, CD5, CD7, CD8.

Сопоставления полученных данных с гистологическим и иммуногистохимическим исследованием показали, что точность проточной цитофлюориметрии в сочетании с цитологическим методом в установлении диагноза злокачественного поражения лимфатических узлов составляет 100%, в диагностике злокачественных лимфом – 98%, в установлении иммунофенотипа лимфомы – 90%. Основными причинами неверного установления иммунофенотипа злокачественных неходжкинских лимфом являются:

1. Сходство иммунофенотипов и цитологической картины при фолликулярной лимфоме 3-й степени злокачественности и диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме.

2. Сходство иммунофенотипов и цитологической картины при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме и лимфоме Беркитта. При лимфоме Беркитта необходимо учитывать типичную

Дифференциальная диагностика Т-клеточных лимфом при иммунофенотипировании

Таблица 2

Гистологический тип лимфомы	Антиген							
	CD3	CD4	CD5	CD7	CD8	CD30	CD56	Другие
Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная	+/-	+/-	+	+/-	-/+	-/+	-/+	
Анапластическая крупноклеточная лимфома	-/+	+/-	-	-	-	+	-/+	ALK+/-EMA+/-

Примечание: (+/-) – 90% случаев позитивны; (-/+) – 10% случаев позитивны.

цитологическую картину: наличие гистиоцитов, лимфоидных клеток среднего размера с округлыми ядрами с плотным хроматином и центрально расположенными базофильными ядрышками; цитоплазма базофильная и часто содержит характерные липидные вакуоли. Опухоль характеризуется высокой митотической активностью, белок пролиферативной активности Ki-67 экспрессирует 100% клеток.

3. При диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов опухолевых клеток может быть менее 10%. При иммунофенотипировании основная популяция клеток будет экспрессировать CD3 (маркер Т-лимфоцитов), что может привести к неверному заключению о наличии Т-клеточной лимфомы. Тщательное иммунофенотипирование и учет цитологической картины позволяют избежать ошибки.

4. Диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов следует дифференцировать с лимфомой Ходжкина. В большинстве случаев при лимфоме Ходжкина опухолевые клетки характеризуются коэкспрессией CD15 и CD30 и отсутствием экспрессии CD20 (маркер В-лимфоцитов). Но существуют В-клеточные опухоли фолликулярного происхождения, формирующие биологическую серую зону и имеющие сходные иммунофенотипы, когда дифференциальную диагностику провести сложно, поскольку для них существует единая В-клетка предшественница.

5. Анапластическую крупноклеточную лимфому (АКЛ) следует дифференцировать с диффузной В-клеточной лимфомой и лимфомой Ходжкина. При АКЛ опухолевые клетки в большинстве случаев будут экспрессировать Т-клеточные антигены и анапластическую лимфомную киназу.

6. Все крупноклеточные лимфомы следует дифференцировать с метастазами низкодифференцированного аденогенного или плоскоклеточного рака, с нейроэндокринными опухолями. Следует отметить, что при крупноклеточных лимфомах и лимфоме Ходжкина опухолевые клетки могут экспрессировать эпителиальный мембранный маркер. Маркер CD30, характерный для большинства крупноклеточных лимфом, экспрессируют клетки рака эндометрия, поджелудочной железы, эмбрионального рака.

Таким образом, комбинация цитологического исследования с иммуноцитохимией и методом проточной цитофлуориметрии имеет ряд преимуществ, позволяющих повысить роль цитологического исследования в диагностике лимфом. Основные преимущества такого подхода:

1. Безопасность и быстрота проведения исследования. По сути, предложена экспресс-методика, позволяющая больному получить заключение в день обращения в клинику.

2. Возможность одновременного исследования большого количества лимфатических узлов, не только поверхностных, но и глубоко расположен-

ных, без предварительного хирургического вмешательства.

3. Высокая точность диагностики и установления иммунофенотипа злокачественных лимфом.

4. Цитологический материал, не подвергшийся агрессивной предварительной обработке, является идеальным для проведения иммуноморфологического метода и проточной цитофлуориметрии.

Несмотря на то, что гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов лимфатических узлов остается «золотым» стандартом в диагностике неходжкинских лимфом, внедрение таких высокотехнологичных методов, как проточная цитофлуориметрия и иммуноцитохимия позволяет пересмотреть роль цитологического метода в диагностике этих заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гранов А.М., Ильин Н.В. Лимфомы. СПб.: 2010.
2. Ковригина А.М., Пробатова Н.А. Лимфома Ходжкина и крупноклеточные лимфомы. М.: 2007.
3. Ковригина А.М., Пробатова Н.А. Тезисы докл. IV конф. Российского общества патологоанатомов «Новые методы и разработки в онкоморфологии», посвящ. 100-летию со дня рождения акад. АМН СССР Н.А. Краевского. М.: 2005; 15.
4. Криволапов Ю.А., Леенман Е.Е. Морфологическая диагностика неходжкинских лимфом. Алма-Ата. 2005.
5. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Туницин Н.Н. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. М.: 2005.
6. Луговская С.А., Почтарь М.Е. Гематологический атлас. Тверь. 2004.
7. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань. 2004.
8. Райт Д., Леонг Э., Эддис Б. Морфологическая диагностика патологии лимфатических узлов. М.: 2008.
9. Aiello A., Delia D., Giardini R. et al. Mol. Pathol. 2003; 6(3): 154-160.
10. Clatch R.J., Foreman J.R., Walloch J.L. Cytometry. 2008; 34: 3-16.
11. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry. New York. 2002.
12. Davey D.D., Kamar D., Zaleski S. et al. Acta Cytol. 2001; 33: 583-590.
13. Dunphy C.H., Ramos R. Diagn. Cytopathol. 2004; 16(3): 200-206.
14. Frable W.J., Kardos T.F. Am. J. Surg. Pathol. 2004; 126: 62-72.
15. Gerders J., Schwab U., Lemke H., Stein H. Int. J. Cancer. 2001; 31: 13-20.
16. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon. 2001.
17. Jeffers M.D., McCorristion J., Farquharson M.A. et al. Cytopathology. 2003; 8(2): 114-120.
18. Orell S.R., Skinner J.M. Pathology. 2001; 14: 389-394.
19. Saddik M., Dabbagh L., Mourad W.A. Diagn. Cytopathol. 2004; 16(2): 126-131.
20. Tani E., Lowhaagen T., Nasiell K. et al. Acta. Cytol. 2001; 33: 359-362.
21. Vianello F., Tison T., Radossi P. et al. Leuk Lymphoma. 2004; 29(1): 179-185.
22. Young N.A., Ai-Salem T.I., Ehya H., Smith M.R. Cancer (Cancer Cytopathol). 2002; 84: 252-261.

МЕТОД АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Чиссов В.И.¹, Решетов И.В.¹, Волченко Н.Н.¹,
Славнова Е.Н.¹, Сухарев С.С.²

¹ ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им П.А. Герцена»,

² ФГОУ ИПК ФМБА, Москва, Россия

Контакты: Славнова Е.Н. mniioict@mail.ru

Цель исследования – поиск объективных критериев дифференциальной диагностики между нормальными клетками и клетками рака молочной железы, определение степени дифференцировки рака молочной железы, объективизация оценки иммуноцитохимической реакции гиперэкспрессии онкопротеина Her2/neu.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили жидкостные и рутинные цитологические препараты различных заболеваний молочной железы от 51 больной. Препараты окрашивали азур эозиновыми смесями. Оценивалась степень экспрессии онкобелка Her2/neu (CerbB-2) на 10 иммуноцитохимических препаратах рака молочной железы. Иммуноцитохимию проводили методом Ultra Vision. Для исследования использовали атомно-силовую микроскоп, входящий в исследовательский комплекс Интегра производства «ЗАО НТ НДТ» г.Зеленоград.

Результаты исследования. Методом атомно силовой микроскопии определен объективный показатель дифференциальной диагностики фиброаденомы и инвазивного протокового рака молочной железы. Соотношение высоты ядра и цитоплазмы является объективным критерием дифференциальной диагностики ФА и рака молочной железы (при раке – $3,2 \pm 1,0$, при ФА – $1,8 \pm 0,4$).

Определены средние значения отношений высот ядер к высоте цитоплазмы для рака молочной железы при различных степенях дифференцировки (низкая – 3,2, умеренная – 3,7, высокая – 2,9). Получены объективные различия в размерах и форме ядрышек для рака молочной железы разной степени дифференцировки.

Методом атомно силовой микроскопии проведена оценка интенсивности иммуноцитохимической реакции по высоте окрашенной мембраны. При гиперэкспрессии Her2/neu определено максимальное возвышение мембраны клеток рака молочной железы на 850 нм.

Выводы. Новый метод АСМ позволяет определить объективные дифференциально-диагностические критерии между фиброаденомой и инвазивным протоковым раком. Для клеток рака характерно увеличение соотношения высоты ядра и цитоплазмы.

Получены объективные критерии определения степени дифференцировки рака МЖ. Важным показателем степени дифференцировки рака молочной железы может служить структура и размеры ядрышек.

ATOMIC FORCE MICROSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF BREAST PATHOLOGY

Chissov V.I.¹, Reshetov I.V.¹, Volchenko N.N.¹,
Slavnova E.N.¹, Sukharev S.S.²

¹ P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute,

² FSI Institute of advanced training of FMBA of Russia, Moscow, Russia

Contact: Slavnova E.N. mniioict@mail.ru

The objective – to determine objective criteria for differential diagnosis between normal cells and breast cancer cells, to determine the level of differentiation of breast cancer, objectivation of assessment of immunocytochemical reaction of hyperexpression of Her2/neu oncoprotein.

Materials and methods. We used liquid and routine cytological specimens of different breast diseases in 51 female patients. The specimens were stained by eosin mixtures. The level of Her2/neu (CerbB-2) oncoprotein expression on 10 immunocytochemical specimens of breast cancer was determined. Immunocytochemical studies were performed by Ultra Vision method. For investigation we used atomic force microscope in study complex Integra by NT-MDT of Zelenograd.

Results. By atomic force microscopy objective criterion for differential diagnosis of fibroadenoma and invasive ductal breast cancer was determined. The objective criteria for differential diagnosis of fibroadenoma and breast cancer may be the ratio between height of nucleus and cytoplasm (for cancer – 3.2 ± 1.0 , for fibroadenoma – 1.8 ± 0.4).

The mean ration between height of nucleus and cytoplasm for different levels of differentiation was found (low – 3.2, moderate – 3.7, high – 2.9). There were significant differences in size and shape of nucleoli for breast cancer of different differentiation levels.

Using atomic force microscopy the rate of immunocytochemical reaction by height of stained membrane was evaluated. For Her2/neu hyperexpression the maximal prominence of membrane of breast cancer cells was 850 nm.

Conclusion. New method of AFM allows determining objective differential and diagnostic criteria for fibroadenoma and invasive ductal cancer. For breast cancer the ration between height of nucleus and cytoplasm increases.

The objective criteria for level of breast cancer differentiation were determined. The important markers of breast cancer differentiation may be the structure and size of nucleoli.

Atomic force microscopy allows determining results of immunocytochemical reactions. For atomic force microscopy Her2/neu hyperexpression was represented as well-defined closed prominence of cytoplasm 850 nm in height.

Key words: atomic force microscopy, breast cancer, fibroadenoma, immunocytochemistry.

* Работа проведена в рамках Госконтракта №16.513.11.3069 «Разработка научных основ исследования объемной ультраструктуры клеток средствами атомно-силовой микроскопии для уточнения диагноза и выработки плана лечения на различных этапах развития рака и других патологических состояний».

* The investigation was performed within the terms of State contract №16.513.11.3069 «The development of scientific basis of three-dimensional ultrastructure of cells using atomic force microscopy for adjustment of diagnosis and treatment schedule in patients with different stage cancer and other pathologies».

АСМ позволяет дополнительно оценивать результаты иммуноцитохимической реакции. В нашем исследовании гиперэкспрессия Her2/neu при АСМ проявлялась в виде четкого замкнутого возвышения цитоплазмы высотой 850 нм.

Ключевые слова: Атомно-силовая микроскопия, рак молочной железы, фиброаденома, иммуноцитохимия.

Использование атомно-силовой микроскопии (АСМ) открывает новые возможности в цитологической диагностике, поскольку метод за небольшое время (минуты) позволяет получить изображение поверхности клеток с разрешением порядка нескольких нанометров (3, 8, 9). Физической основой работы АСМ служит взаимодействие между острием зонда, сканирующего исследуемый образец, и поверхностью (4). В процессе сканирования зонд движется строка за строкой по изучаемому образцу. При этом острие зонда приподнимается и опускается, очерчивая микрорельеф поверхности образца.

АСМ обладает рядом преимуществ, что дает возможность применять этот метод в цитологии [1, 2, 5, 6, 7, 10, 11, 12]. Во-первых, АСМ позволяет изучать структуру и разнообразные свойства поверхностей в различных средах с высоким пространственным разрешением, порядка нескольких нанометров (7–8 нм), за небольшое время (минуты). Во-вторых, при АСМ получают трехмерное изображение клеток и макромолекул на их поверхности. В-третьих, с помощью АСМ исследуют поведение макромолекул и живых клеточных систем в условиях, приближенных к физиологическим. Спектральные исследования, проводимые с помощью АСМ, дают информацию о химическом составе исследуемого объекта. Кроме того, возможно детектирование физических свойств исследуемых поверхностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования послужил 51 цитологический препарат опухолей молочной железы, полученный методом тонкоигольной аспирационной биопсии под контролем ультразвукового исследования и с помощью соскобов с операционного материала. Методом АСМ можно исследовать как рутинные цитологические мазки, так и жидкостные монослойные препараты, окрашенные азур эозиновыми смесями.

Для объективизации данных ИЦХ о степени экспрессии онкобелка Her2/neu (CerbB-2) исследовали 10 иммуноцитохимических препаратов рака молочной железы. Иммуноцитохимию проводили методом Ultra Vision. Все препараты исследовались с помощью обычной световой микроскопии, а затем с помощью АСМ.

Для исследования использовали атомно-силовую микроскопию, входящий в исследовательский комплекс Интегра производства «ЗАО НТ НДТ» г. Зеленоград, Россия. Сканирование осуществляли

в полуконтактном режиме. Полученные данные микрорельефа поверхностей клеток и его локальных свойств обрабатывали штатными программными средствами, входящими в состав программного обеспечения исследовательского комплекса «Интегра».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выделены три задачи цитологической диагностики, в решении которых АСМ может оказать цитологу дополнительную помощь при патологии молочных желез:

1. Поиск объективных критериев дифференциальной диагностики между нормальными клетками и клетками рака молочной железы (МЖ).
2. Определение степени дифференцировки рака МЖ.
3. Объективизация иммуноцитохимической реакции (ИЦХ) гиперэкспрессии онкопротеина Her2/neu.

Первая задача – поиск объективных критериев дифференциальной диагностики между нормальными клетками и клетками рака молочной железы.

Рутинная цитограмма наиболее распространенного (80%) инвазивного протокового рака молочной железы представлена полиморфными клетками с гиперхромными ядрами, с увеличенными полиморфными ядрышками, грубой неравномерной структурой хроматина (Рис. 1). Отмечается тенденция клеток к разрозненному расположению, а также к образованию железистоподобных структур. Они в наибольшей мере отражают реальную форму и поверхностные свойства клеток.

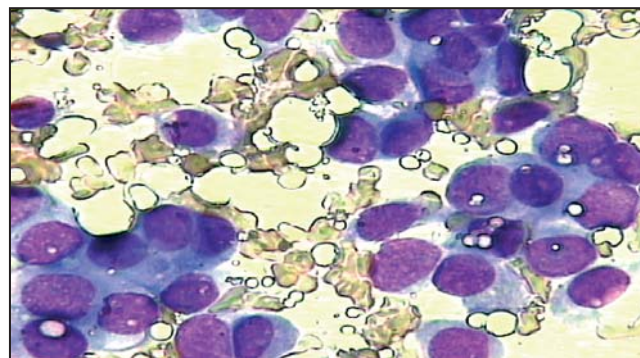


Рис. 1. Рутинная цитограмма инвазивного протокового рака молочной железы. Окр. по Паппенгейму. Ув.400Х.

При проведении АСМ в клетках инвазивного протокового рака молочной железы наблюдается грубый микрорельеф поверхности ядер, ядрышки хорошо просматриваются в виде локальных возвышений, ядерно-цитоплазменное соотношение сдвинуто в сторону ядра (Рис. 2). Контуры ядра и цитоплазмы неровные. Высота ядра составляет 742 ± 143 нм. Высота цитоплазмы – 248 ± 94 нм, отношение высоты ядра к высоте цитоплазмы составляет 3.2 ± 1.0 . Высота ядрышек над поверхностью ядра – 151 ± 90 нм.

Фиброаденома (ФА) – одна из наиболее распространенных доброкачественных опухолей мо-

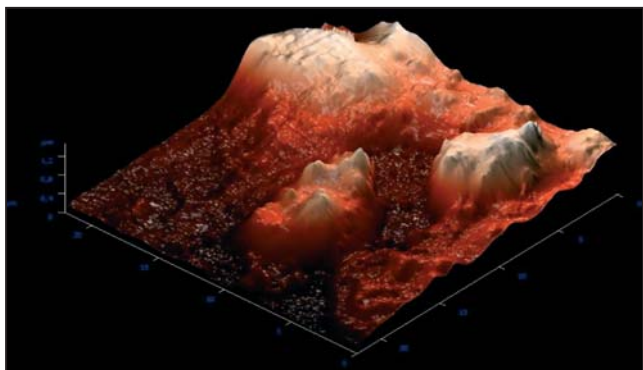


Рис. 2. АСМ изображение клеток рака молочной железы.

лочной железы, при которой иногда трудно провести дифференциальную диагностику, особенно у женщин пременопаузального возраста, с дольковым или высокодифференцированным протоковым раком. Клетки, как правило, расположены в виде комплексов, наблюдается укрупнение размеров клеток и ядерный хроматин грубый, имеются ядрышки. Вместе с тем, клетки располагаются примерно на одинаковом расстоянии и ориентированы в одном направлении, контуры ядер ровные, хроматин распределен равномерно (Рис.3).

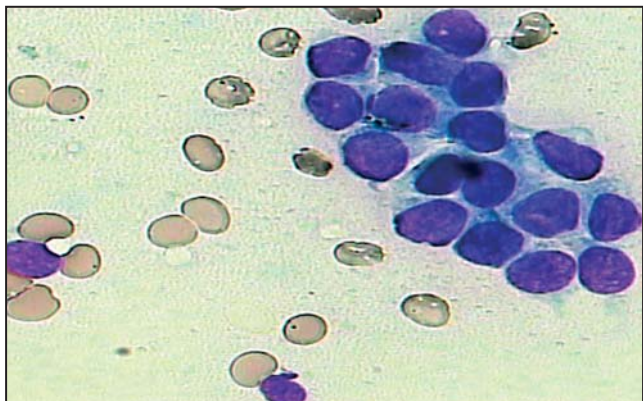


Рис. 3. Рутинная цитогарма фиброаденомы молочной железы. Окр. по Паппенгейму. Ув.400X.

Методом АСМ при фиброаденоме в клетках эпителия хорошо видна сглаженность микрорельефа ядер (Рис. 4). Контуры ядра, цитоплазмы ровные. Если провести сечение клеток вдоль оси

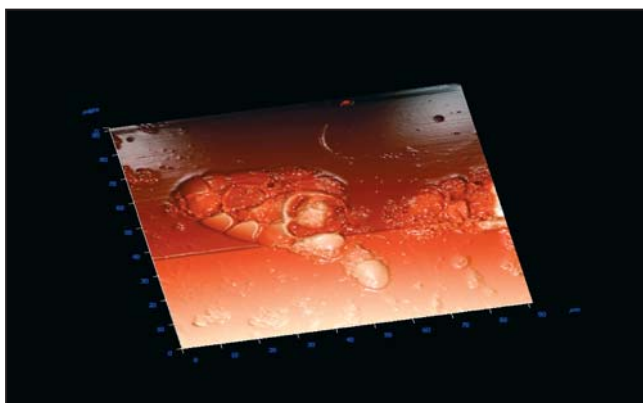


Рис. 4. АСМ изображение фиброаденомы молочной железы.

Z, определяются высота ядра – 417 ± 89 нм и цитоплазмы – 239 ± 57 нм. Соотношение высоты ядра и цитоплазмы $1,8 \pm 0,4$. Этот параметр может служить объективным критериям дифференциальной диагностики ФА и рака молочной железы (при раке – $3,2 \pm 1$, при ФА – $1,8 \pm 0,4$).

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Больная М. 42 года. В анамнезе рак молочной железы справа шесть лет назад, в настоящее время узловое образование в левой молочной железе. По данным УЗИ — фиброаденома, по данным маммографии — подозрение на наличие рака. При цитологическом исследовании методами световой микроскопии материала тонкоигольной аспирационной биопсии, взятого из узлового образования МЖ, оказалось невозможным исключить высокодифференцированный дольковый РМЖ на фоне фиброаденомы. Материал был подвергнут изучению средствами АСМ и оказалось, что наряду с отсутствием ядрышек, среднее отношение высоты ядра к высоте цитоплазмы равно 1,7 (при максимальном по всем препаратам данной пациентки значении значение 2,5) (Рис.5).

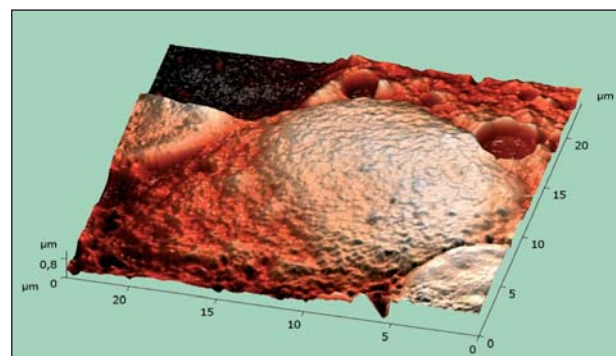


Рис. 5. АСМ изображение фиброаденомы молочной железы больной М. Изображение клетки эпителия молочной железы.

Согласно приведенной ниже таблице 1 был поставлен диагноз ФА, что было подтверждено последующим гистологическим исследованием.

Вторая задача — объективизация определения степени дифференцировки рака МЖ. Средние значения отношений высот ядер к высоте цитоплазмы для рака молочной железы различных степеней дифференцировки при обычной окраске препаратов приведены в таблице 2.

Важным показателем степени дифференцировки рака молочной железы может служить структура и размеры ядрышек. При фиброаденоме ядрышки отсутствовали. В наших исследованиях мы наблюдали 3 вида ядрышек: при высокодифференцированном раке преобладали цилиндрической формы ядрышке диаметром в среднем 0,6 мкм с толщиной стенок около 200 нм и высотой над ядром порядка

Параметры клеток рака и нормальных клеток, полученные методом АСМ						Таблица 1
Исследуемые клетки	Высота цитоплазмы над подложкой нм	Высота ядра над подложкой нм	Соотношение высоты ядра и цитоплазмы	Высота ядрышка над подложкой нм	Отношение высоты ядрышка над ядром к высоте ядра над подложкой	
Клетки рака молочной железы	248±94	742±143	3,2± 1	880±194	0,28 ±0,14	
Клетки фиброаденомы	239±94	417±89	1,8±0,4	–	–	

Средние значения отношений высот ядер к высоте цитоплазмы для рака молочной железы при различных степенях дифференцировки					Таблица 2
Степень дифференцировки рака молочной железы	Низкая	Умеренная	Высокая	Фиброаденома	
Среднее отношение высоты ядра к высоте цитоплазмы	3,2	3,7	2,9	2,5	

20 нм, при умеренно-дифференцированном – цилиндрические с диаметром около 3 мкм, толщиной стенок порядка 1 мкм и высотой над ядром порядка 50 нм, при низкодифференцированном – в виде сплошного (нецилиндрического) возвышения диаметром 2 мкм и высотой над ядром около 150 нм (Рис. 6, 7, 8, 9).

Таким образом, были получены дифференциально-диагностические критерии между различными степенями дифференцировки рака МЖ – по соотношению высот ядра и цитоплазмы и по форме ядрышек и размеру ядрышек.

Третья задача – объективизация иммуноцитохимической реакции (ИЦХ) гиперэкспрессии онкопротеина Her2/neu, выражающейся в интенсивном окрашивании цитоплазматической мембраны опухолевых клеток, что отражает образование комплекса антиген-антитело. Важность определения при раке молочной железы гиперэкспрессии рецеп-

тора эпидермального фактора роста 2-го типа Her2/neu, придающего клеткам свойство неограниченного деления, определяется тем, что эти опухоли с одной стороны имеют плохой прогноз, но в то же время эти опухоли хорошо поддаются таргетной терапии герцептином. АСМ иммуноцитохимических препаратов с гиперэкспрессией Her2/neu демонстрирует четкое увеличение и уплотнение мембраны опухолевых клеток. При этом возможна оценка интенсивности иммуноцитохимической реакции по высоте окрашенной мембраны. Легко оценивать и замкнутость окраски мембраны. При АСМ гиперэкспрессия Her2/neu проявляется возвышением мембраны клеток на 850 нм (Рис. 10, 11, 12)

Выводы

Новый метод АСМ позволяет определить объективные дифференциально-диагностические критерии между фиброаденомой и инвазивным про-

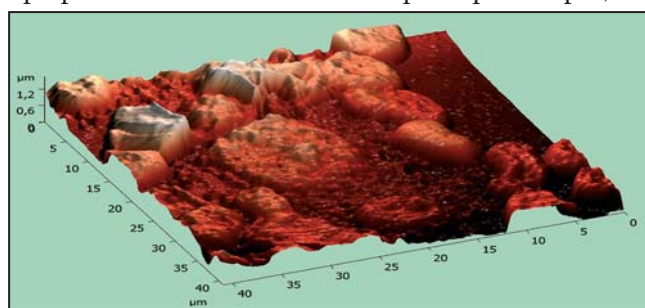


Рис. 6. АСМ изображение клеток умереннодифференцированного протокового РМЖ.

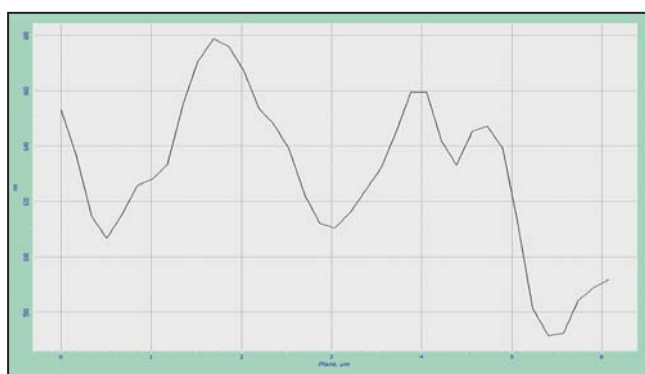


Рис. 7. Сечение вдоль оси Z ядрышка цилиндрической формы при умереннодифференцированном протоковом раке МЖ.

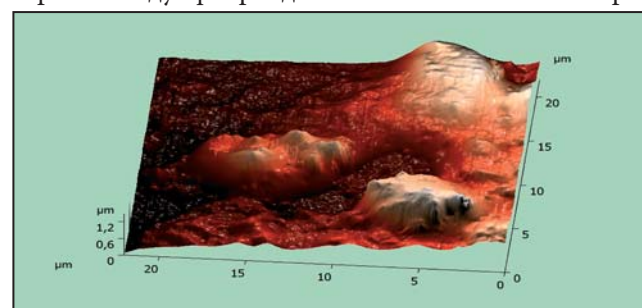


Рис. 8. АСМ изображение клеток низкодифференцированного протокового РМЖ.



Рис. 9. Сечение вдоль оси Z сплошного плотного ядрышка при низкодифференцированном протоковом раке.

токовым раком. На модели рака молочной железы обнаружена разница в соотношениях высоты ядра и цитоплазмы. Для клеток рака характерно увеличение соотношения высоты ядра и цитоплазмы, по-видимому, это связано с нарушением структуры мембран при злокачественной трансформации клеток.

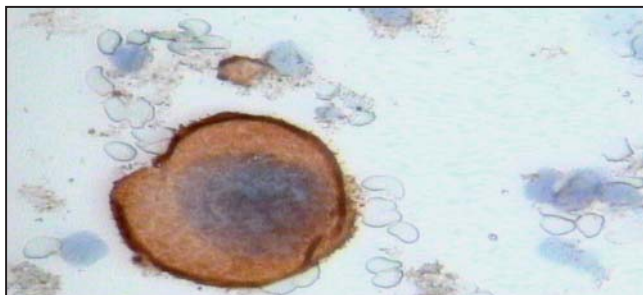


Рис. 10. Гиперэкспрессия Her2/neu при раке молочной железы. ИЦХ. Ув. 1000X.

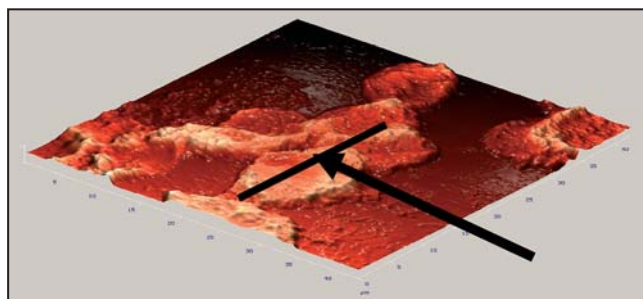


Рис. 11. АСМ изображение выраженной экспрессии Her2/neu после ИЦХ. Отмечена стрелкой гиперэкспрессия Her2/neu, характеризующаяся утолщением цитоплазмы.

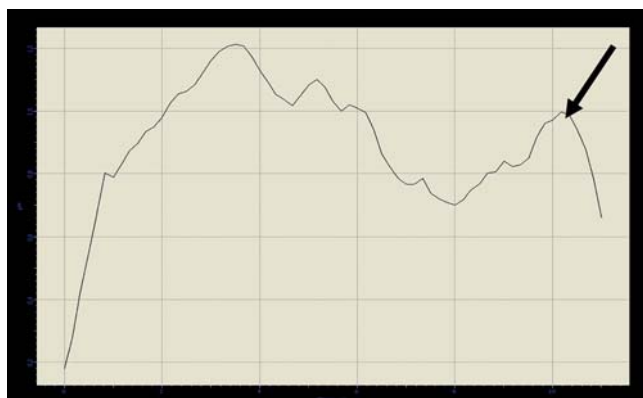


Рис. 12. АСМ изображение выраженной экспрессии Her2/neu. Сечение вдоль оси Z. Отмечена стрелкой гиперэкспрессия Her2/neu, характеризующаяся утолщением цитоплазмы.

Получены объективные критерии определения степени дифференцировки рака МЖ. Средние значения отношений высот ядер к высоте цитоплазмы для рака молочной железы различных степеней дифференцировки различна и увеличивается по мере нарастания степени злокачественности. Важным показателем степени дифференцировки рака молочной железы может служить структура и размеры ядрышек.

АСМ позволяет дополнительно оценивать результаты иммуноцитохимической реакции. В нашем исследовании гиперэкспрессия Her2/neu при АСМ проявлялась в виде четкого замкнутого возвышения цитоплазмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуцина Ю.Ю., Олюнина Л.Н., Гончарова А.П., Веселов А.П., Мацкова Ю.А., Ежевская М.А. Исследование поверхности клеток *Azotobacter Chroococcum* в условиях гипертермии методом Атомно-Силовой Микроскопии. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2005; 5: 87-92.
2. Гуцина Ю.Ю., Плескова С.Н., Звонкова М.Б. Исследование различий морфологических параметров клеток крови человека методом Сканирующей Зондовой Микроскопии. Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2005; 1: 48-53.
3. Кирпичников М.П. Молекулярная диагностика детских инфекций методом атомно-силовой микроскопии. В мире науки. 2006; 9: 82-85.
4. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии М.Техносфера, 2004.
5. Саликова С.П., Стадников А.А., Никитян А.Р. Атомно-силовая микроскопия – новая возможность в изучении кардиомиоцитов. Вестник ОГУ. 2003; 1: 56-62.
6. Чиссов В.И., Волченко Н.Н., Решетов И.В., Сухарев С.С., Славнова Е.Н., Иванов Ю.С., Багров Д.В. Атомно-силовая микроскопия как метод уточняющей диагностики в онкоцитологии. Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием «Нанотехнологии в онкологии». М.: 2008; 80-81.
7. Яковлева В.А., Лисицин Ф.В., Манькин А.А., Коньшова Т.А. Опыт применения Атомно-Силовой микроскопии при исследовании цитологических препаратов у женщин с папилломовирусными поражениями и опухолями гениталий. Новости клинической цитологии России. Москва. 2007; 1-2: 35-37.
8. Chernoff D.A. Atomic Force/Scanning Probe Microscopy of Pharmaceutical and Biological Materials. Nanotech 2008. Technical Proceedings of the 2008 Nanotechnology Conference and Trade Show. Vol.2.
9. Lal R., John D.W., Laird S.A., Arnsdorf M.F. Heart gap preratation reveal hemiplagues by atomic force microscopy. Am. J. Physiol. Society. 1995; 68: 967-77.
10. Máire A., Duggan M.D. Cytologic and Histologic Diagnosis and Significance of Controversial Squamous Lesions of the Uterine Cervix. Mod. Pathol. 2000; 13(3): 252-260.
11. Mark F Murphy, Michael J Lalor, Francis C R Manning, Francis Lilley, Steven R Crosby, Catherine Randall, David R Burton. Comparative study of the conditions required to image live human epithelial and fibroblast cells using atomic force microscopy. Microsc. Res. Tech. 2006; Aug 4: 16892195 (P, S, G, E, B).
12. Sanjeev G. Shroff, Donald R. Saner et al. Dinamic micromechanical properties of cutured rat atrial myocytes measured by atomic force microscopy. Am. J. Physiol. Society. 1995; 269: (Cell Physiol, 38): 286-329.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОТКРЫТОЙ И ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ ПЕРЕДНЕЙ РЕЗЕКЦИИ ПРИ РАКЕ ПРЯМОЙ КИШКИ

Разбирин В.Н.¹, Бутенко А.В.²

¹ Московская городская клиническая больница №24, Московский городской центр колопроктологии

² Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Минздрава России, Москва, Россия

Контакты: Разбирин В.Н. E-mail: v.razbirin@gmail.com

Цель. Применение лапароскопической технологии в хирургическом лечении рака прямой кишки позволяет улучшить качество жизни пациентов в отдаленном периоде за счет получения более высоких функциональных результатов.

Материалы и методы. В работе сравниваются непосредственные, отдаленные и функциональные результаты лечения 222 пациентов двух групп, перенесших внутрибрюшную (переднюю) резекцию прямой кишки за период с 2000 по 2004 гг.: 103 – лапароскопическую операцию, 119 – открытую.

Результаты. Средняя кровопотеря составила 138±61,8 мл после лапароскопической операции и 164±65,3 мл после открытой. Комбинированных вмешательств в основной группе было 9 (8,7%), сочетанных операций – 17 (16,5%), в группе сравнения – 17 (14,3%) и 18 (15,1%) соответственно. Удаление образований из печени производилось у 2 больных основной группы (1,9%). В группе сравнения таких пациентов было 5 (4,2%). Летальность в основной группе составила 0,97%, в группе сравнения – 0,84%.

Длительность послеоперационного периода в основной группе была достоверно короче (13,5 суток) по сравнению с группой сравнения (16,6 суток). Болевой синдром после лапароскопического вмешательства был значительно ниже. В среднем на одного пациента основной группы потребовалось 77±14,4 мг промедола против 115±16,1 мг в группе сравнения ($p<0,05$). В группе лапароскопических операций отмечалась более ранняя активизация функции кишечника: перистальтика восстанавливалась через 36,1±6,41 часа по сравнению с 51±7,08 часа при открытой операции ($p<0,05$). Это позволило переводить пациентов основной группы на энтеральное питание в среднем через 49,3±5,3 часа (через 63,2±6,4 часа при традиционном вмешательстве) и расширить диету до 4 стола через 93,2±0,89 часа и 112,7±0,76 часа соответственно ($p<0,05$). Активизация больных после лапароскопической операции осуществлялась в более ранние сроки (49,9±1,3 часа), после открытой – через 75,2±0,98 часа ($p<0,05$). Восстановление самостоятельного мочеиспускания у пациентов после лапароскопического вмешательства наступало достоверно раньше: через 53,7±1,26 часа против 75,8±1,05 часа после открытой операции ($p<0,05$).

Функциональные результаты у пациентов прослежены в отдаленном периоде в сроки 3–5 лет после операции. Всего удалось опросить 44 пациента основной группы и 53 пациента группы сравнения. Большинство респондентов основной (95,5%) и контрольной групп (81,1%) отмечают удовлетворительный уровень социальной адап-

LAPOROSCOPIC AND OPEN ANTERIOR RESECTION FOR RECTAL CANCER: FUNCTIONAL RESULTS

Razbirin V.N.¹, Butenko A.V.²

¹ Moscow city clinical hospital #24, Federal State Institute State Research Center of coloproctology of Russia,

² P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute, Moscow, Russia

Contact: Razbirin V.N. E-mail: v.razbirin@gmail.com

The purpose. Laparoscopic technique for surgical treatment in patients with rectal cancer allows to improve quality of life in long-term period due to better functional results.

Materials and methods. Short- and long-term outcomes and functional results were compared in 222 patients who underwent anterior resection of rectum in the period from 2000 to 2004: 103 – laparoscopic, 119 – open surgery.

Results. The average blood loss was 138±61.8 ml for laparoscopic resection and 164 ± 65.3 ml for open surgery. For the main group, there were 9 (8.7%) combined surgery, 17 (16.5%) concurrent surgery. For the control group – 17 (14.3%) and 18 (15.1%) operations, respectively. The removal of tumors from liver was performed in 2 patients in the main group (1.9%) and in 5 (4.2%) patients in control group. Mortality accounted for 0.97% in the main group and 0.84% in the control group.

The duration of postoperative period was significantly shorter – 13.5 days versus 16.6 days for open surgery. The severity of pain was significantly lower after laparoscopic surgery. On an average one patient needed 77±14.4 mg of promedolum versus 115±16.1 mg for control group ($p<0.05$). For laparoscopic group there was earlier activation of bowel function – recover of bowel movements in 36.1±6.41 h versus 51±7.08 for open surgery ($p<0.05$). This fact allowed to start enteral nutrition in 49.3±5.3 h, and in 63.2±6.4 h for conventional surgery and to expand dietary menu in 93.2±0.89 h and 112.7±0.76 h, respectively ($p<0.05$). Activation of patients after laparoscopic surgery was performed in earlier period (49.9±1.3 h), and for open surgery – in 75.2±0.98 h ($p<0.05$). Self-acting urination in patients with laparoscopic surgery recovered significantly earlier: in 53.7±1.26 h versus 75.8±1.05 h after open surgery ($p<0.05$).

Functional results were followed up in long-term period of 3–5 years after surgery. 44 patients in laparoscopic group and 53 patients of control group were examined. The most of responders in laparoscopic (95.5%) and control group (81.1%) had satisfied level of social adaptation. More than 80% of patients in laparoscopic group had regular defecation. For control group it occurred in 62% of patients. Most of patients in laparoscopic group obtained regular defecation due to diet and nutrition regimen (77.3%). For the control group approximately 40% of patients needed cleansing enema. Rectal discharge was a rare event in patients with laparoscopic resection (1 patient). For control group 13.2% (7) of patients had moderate mucosal discharge. Almost all responders in laparoscopic group felt an urge to defecate and signs for passage of flatus. These feelings were also good in the control group (94.3%), only 3 responders had recurrent impairment

For sexual activity there were differences between two groups. 29 patients in laparoscopic group had regular sexual

тации. Более 80% пациентов основной группы удалось добиться регулярности стула. В группе сравнения этот показатель отмечен у 62% больных. При этом большинство пациентов, перенесших лапароскопический вариант операции, достигают этого диеты и режимом питания (77,3%). В группе сравнения у 39,6% больных возникает необходимость в использовании очистительных клизм. Проблем из-за выделений из прямой кишки у пациентов, перенесших лапароскопический вариант операции, практически не отмечалось. В группе сравнения у 13,2% (7 пациентов) отмечались умеренные слизистые выделения. Практически все респонденты основной группы ощущают позывы на стул и предвестники отхождения газов. В группе сравнения этот показатель также высок (94,3%), лишь три из опрошенных пациента отмечают периодическое нарушение ощущений.

Различия между группами выявлены при анализе вопроса о сексуальной активности. Среди опрошенных 29 пациентов основной группы (19 женщин и 10 мужчин) имели регулярную половую жизнь до операции, в группе сравнения – 34 (21 женщина и 13 мужчин). У женщин обеих групп половая жизнь после операции не изменилась. В основной группе изменения в половой жизни временного характера имели лишь 2 пациента (незначительные нарушения эрекции). В группе сравнения у 2 пациентов (15,3%) половая жизнь сильно нарушилась по причинам, связанным с последствиями операции (тяжелые нарушения эрекции), и еще у двух при сохранении основных функций и ощущений нарушился процесс эякуляции (отсутствие семяизвержения).

Выводы. Не выявлено различий между двумя методами по основным характеристикам операций. Функциональные результаты в отдаленном периоде после лапароскопической операции по отдельным показателям качества жизни оказались несколько лучше, чем у больных, перенесших традиционное вмешательство.

Ключевые слова: рак прямой кишки, передняя резекция прямой кишки, лапароскопическая передняя резекция прямой кишки, функциональные результаты.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие новые эндовидеохирургические технологии уверенно заняли свое место в абдоминальной общей и онкологической хирургии.

Применение лапароскопической технологии в лечении больных колоректальным раком позволяет снизить травматичность операции, ускорить реабилитацию больных без ущерба радикальности лечения [1–4, 11, 13, 15–18]. Лапароскопические операции обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционными вмешательствами: прецизионность и меньший травматизм вмешательства, более ранние сроки реабилитации в послеоперационном периоде [7, 9–11]. Как показали исследования, качество жизни пациентов после лапароскопических операций на толстой кишке выше, чем после традиционных вмешательств [6, 8, 12, 14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 222 пациента, которым в период с 2000 по 2004 гг. была выполнена внутрибрюш-

ная (передняя) резекция при раке прямой кишки (открытым и лапароскопическим доступом). Исследование ретроспективное, охватывает период с 2000 по 2004 г. В работе сравнивали непосредственные, отдаленные и функциональные результаты лечения пациентов двух групп: 103 больных, перенесших лапароскопическую внутрибрюшную (переднюю) резекцию прямой кишки (ЛПРПК) (основная группа) и 119 пациентов, которым за этот же период времени выполнена внутрибрюшная (передняя) резекция прямой кишки (ПРПК) открытым способом (группа сравнения).

Conclusions. for main parameters there were no significant differences between two methods. For certain parameters long-term functional results were better in laparoscopic group versus traditional surgery.

Key words: rectal cancer, anterior rectal resection, laparoscopic anterior rectal resection, functional result.

Характеристики оперативных вмешательств

По нашим данным, затраты времени на оперативное вмешательство между двумя группами пациентов достоверно различаются. На выполнение лапароскопического вмешательства в среднем затрачивали 205±49,1 мин., на открытую операцию 147±21,6 мин.

Средняя кровопотеря в обеих группах больных статистически значимо не различалась и составила после

лапароскопической операции $138 \pm 61,8$ мл, после открытой операции – $164 \pm 65,3$ мл.

Семи пациентам (6,7%) была предпринята попытка выполнения ЛПРПК. По техническим причинам операция заканчивалась стандартным лапаротомным доступом (Табл. 1).

Причины конверсии	Число наблюдений	
	абс.	%
Местное распространение опухоли	2	28,6
Аномалия развития	1	14,2
Спаечный процесс в брюшной полости	2	28,6
Технические аппаратные осложнения	2	28,6
Всего	7	100

Интраоперационное осложнение наблюдали лишь у одного больного (кровотечение из троакарного отверстия в правом мезогастрii). Рана ушита с помощью «портняжной иглы» с достижением полного гемостаза.

Во время лапароскопических операций было выполнено 17 (16,5%) сочетанных операций и 9 (8,7%) – комбинированных, в группе сравнения – соответственно 18 (15,1%) и 17 (14,3%) (Табл. 2).

Операция	Основная группа ЛПРПК n=103		Группа сравнения ПРПК n=119	
	Кол-во	%	Кол-во	%
Резекция тонкой кишки	3	2,9	4	3,3
Удаление образований из печени	2	1,9	5	4,2
Резекция тканей боковой стенки таза	2	1,9	3	2,5
НАМ с придатками	-	-	2	1,7
Экстирпация матки с придатками	1	0,97	1	0,84
Овариоэктомия	-	-	2	1,7
Резекция стенки мочевого пузыря	2	1,9	2	1,7
Резекция семенных пузырьков	-	-	1	-
Аппендэктомия	-	-	2	1,7
Левосторонняя гемиколэктомия (синхронный рак нисходящей кишки)	1	0,97	-	-
Резекция поперечноободочной кишки по Микуличу (синхронный рак поперечноободочной кишки)	-	-	1	0,84
Всего	9	8,7	17	14,3

Примечание: у одного больного может быть резецировано несколько органов.

При удалении метастазов из печени с хорошим гемостатическим эффектом использовали ультразвуковой скальпель Ultracision и электрокоагуляцию «точка». В случаях ассистированных удалений метастазов через верхнесрединную лапаротомную ткань печени прошивали с помощью линейного сшивающего аппарата УДО-50 с наложением, при необходимости, дополнительных гемостатических швов. Удаление образований из печени производили у 2 больных основной группы (1,9%). В группе сравнения таких пациентов было 5 (4,2%). Во всех случаях метастазы в печени были подтверждены гистологически. В основной группе пациентов и группе сравнения выполняли следующие сочетанные операции (Табл. 3).

Операция	Основная группа ЛПРПК n=103		Группа сравнения ПРПК n=119	
	Кол-во	%	Кол-во	%
Овариоэктомия	10	9,7	9	7,6
Консервативная миомэктомия	3	2,9	1	0,84
Холецистэктомия	-	-	1	0,84
Левосторонняя гемиколэктомия	1	0,97	1	0,84
Экстирпация матки с придатками (миоматоз, кисты)	1	0,97	-	-
Грыжесечение	1	0,97	-	-
Надвлагалищная ампутация матки с придатками	-	-	2	1,7
Дивертикулярная болезнь левой половины ободочной кишки с явлениями дивертикулита	1	0,97	4	3,4
Всего	17	16,5	18	15,1

Осложнения, связанные с проведением комбинированных и сочетанных операций, отмечены не были.

Ближайший послеоперационный период. Сравнительный анализ результатов лапароскопических и традиционных оперативных вмешательств не выявил существенную разницу в продолжительности стационарного лечения больных обеих групп (Табл. 4).

Койко-день	Основная группа ЛПРПК n=103		Группа сравнения ПРПК n=119		p
	Дни	мин.-макс.	Дни	мин.-макс.	
Общий	$24,1 \pm 10,04$	12-68	$26,7 \pm 7,83$	14-52	0,13
После операции	$13,5 \pm 5,18$	8-42	$16,6 \pm 6,68$	9-45	0,03

Общий (средний) койко-день в обеих группах, как видно из таблицы 5, составил в основной группе 24,1 дня, в группе сравнения – 26,7 (разница статистически недостоверна). Однако длительность послеоперационного периода в основной группе была достоверно меньше (13,5 суток), чем в группе сравнения (16,6 суток).

Болевой синдром после оперативного вмешательства анализировали по шкале вербальной оценки, в связи с чем обезболивание наркотическими анальгетиками носило в большей степени превентивный характер. При этом после лапароскопического вмешательства он был значительно меньше, чем после традиционного. В основной группе больных на одного пациента в среднем потребовалось $77 \pm 14,4$ мг промедола, а в группе сравнения – $115 \pm 16,1$ мг ($p < 0,05$).

Меньшая интраоперационная травма при лапароскопических оперативных вмешательствах приводит к более раннему восстановлению функции кишечника и, соответственно, к более быстрой послеоперационной реабилитации больных (Табл. 5).

В группе лапароскопических операций отмечалась более ранняя активизация функции кишечника, восстановление перистальтики через $36,1 \pm 6,41$ часа по сравнению с $51 \pm 7,08$ часа при открытой операции

Физиологические функции	Сроки восстановления функций		
	Основная группа ЛПРПК n=103	Группа сравнения ПРПК n=119	p
	Часы	Часы	
Восстановление перистальтики	36,1±6,41	51±7,08	0,033
Перевод на энтеральное питание	49,3±5,3	63,2±6,4	0,021
Восстановление мочеиспускания	53,7±1,26	75,8±1,05	0,045
Активизация	49,9±1,3	75,2±0,98	0,037
Восстановление пассажа по кишечнику	98,8±2,04	94,8±1,59	0,058

($p < 0,05$). Это позволило переводить пациентов основной группы на энтеральное питание в среднем через 49,3±5,3 часа, но через 63,2±6,4 часа при традиционном вмешательстве и расширить диету до 4 стола через 93,2±0,89 и 112,7±0,76 часа соответственно ($p < 0,05$).

Активизация больных после операции в основной группе осуществлялась также в более ранние сроки (49,9±1,3 часа), в группе сравнения – через 75,2±0,98 часа ($p < 0,05$).

Восстановление самостоятельного мочеиспускания у пациентов после лапароскопических вмешательств наступало достоверно раньше (через 53,7±1,26), чем после открытых операций (75,8±1,05 часа, $p < 0,05$). Это, в первую очередь, связано с болевым синдромом в области лапаротомной раны у пациентов после открытых операций, который не позволяет им подключать мышечные усилия передней брюшной стенки при мочеиспускании, что является одной из причин задержки удаления мочевого катетера более чем на сутки по сравнению с пациентами после лапароскопического вмешательства.

Время восстановления естественного пассажа по кишечнику у пациентов основной группы составило 98,8±2,04 часа, в группе сравнения – 94,8±1,59 часа ($p > 0,05$).

Характер и количество послеоперационных осложнений в основной и группе сравнения не отличались в целом, статистически значимая разница прослежена лишь по некоторым из них (Табл. 6).

Послеоперационная летальность в основной группе составила 0,97%, в группе сравнения – 0,84%. Причиной летальных исходов явился перитонит на фоне несостоятельности анастомоза.

Функциональные результаты. Функциональные результаты у пациентов обеих групп прослежены в отдаленном периоде в сроки 3–5 лет после операции (Табл. 7). Всего удалось опросить 44 пациента основной группы и 53 из группы сравнения.

В основной группе 38 (88,6%) пациентов считают, что их жизнь после операции изменилась незначительно, среди них 35 (79,5%) полностью приспособились к изменившимся условиям жизни. Так же ответили на этот вопрос 38 (71,2%) пациентов группы сравнения, но полной адаптации достигли только 34 (64,1%). Следует отметить тот факт, что всем пациентам группы сравнения

было проведено двухэтапное хирургическое лечение, т.е. первичную операцию заканчивали наложением пре-вентивной колостомы.

По вопросу о режиме питания больных основной и контрольной групп данные сходные: чуть более 10% (11,3 и 13,2%) придерживались определенного пищевого рациона.

Более 80% пациентов основной группы добились определенной регулярности стула (в группе сравнения – 62%).

В основной группе большинство (77,3%) пациентов осуществляют опорожнение кишечника диетой и режимом питания. В группе сравнения у 39,6% больных возникает необходимость в использовании очистительных клизм.

Выделения из прямой кишки у пациентов, перенесших лапароскопический вариант операции, практически не отмечались (1 пациентка), а в группе сравнения 7 пациентов (13,2%) жаловались на умеренные слизистые выделения.

Послеоперационные осложнения	Основная группа ЛПРПК n=103		Группа сравнения ПРПК n=119		p
	Абс.	%	Абс.	%	
	Без осложнений	83(17)*	80,5	88(10)*	
Несостоятельность анастомоза	6	5,8	8	6,7	>0,05
Перитонит	2	1,94	1	0,84	>0,05
Пневмония	-	-	1	0,84	>0,05
Осложнения со стороны CCC	1	0,97	2	1,68	>0,05
Тромбофлебит	2	1,94	2	1,68	>0,05
Местные воспалительные осложнения	1	0,97	10	8,4	<0,05
Осложнения в п/о ране	3	2,91	13	10,9	<0,05
Урологические осложнения	3	2,9	11	9,2	<0,05
Псевдомембранозный колит	1	0,97	-	-	-
Позиционный неврит	1	0,97	-	-	-

* В скобках указаны в том числе пациенты, имевшие однократный подъем температуры тела до фебрильных и субфебрильных цифр, не потребовавших дополнительных вмешательств, манипуляций и лечения.

Функциональные результаты	Основная группа ЛПРПК n=44		Группа сравнения ПРПК n=53		p
	Абс.	%	Абс.	%	
	Полная адаптация	41	93,2	38	
Регулярность стула	36	81,8	33	62,2	=0,048
Соблюдение диеты	5	11,3	7	13,2	=0,31
Использование очистительных клизм	10	22,7	21	39,6	=0,047
Выделения из кишки	1	2,3	7	13,2	=0,039
Использование гигиенических прокладок	3	6,8	5	9,4	=0,18
Расстройства в половой сфере (29/34)	2	6,8	6	17,6	=0,07

Гигиеническими прокладками периодически пользуются менее 10% опрошенных в обеих группах, однако большинство используют их «для страховки».

Практически все респонденты основной группы испытывают позывы на стул и ощущают предвестники отхождения газов. В группе сравнения этот показатель также высок (94,3%), лишь три из опрошенных отмечают периодическое нарушение ощущений. Практически всем пациентам удается бороться с избыточным газообразованием.

Более 80% больных обеих групп отмечают после операции тенденцию к образованию более плотных каловых масс. В основной группе все опрошенные удерживают все виды стула и даже клизменную воду. В группе сравнения все виды стула могут удерживать более 96% пациентов, отмечая хороший эффект опорожнения. У остальных пациентов эвакуация каловых масс происходит в несколько этапов на протяжении 1-3 часов.

Отвечая на вопрос о социальной адаптации, большинство респондентов основной и контрольной групп отмечают удовлетворительный уровень адаптации (95,5 и 81,1% соответственно). В группе сравнения 16,9% пациентов отмечают страх и дискомфорт по сравнению с 5,4% пациентов основной группы.

Около 40% опрошенных обеих групп, работавших до операции, ответили, что им пришлось уйти с работы по причинам, связанным с ее последствиями. Остальные пациенты продолжали работать или оставили ее по другим причинам.

Большинству больных в обеих группах удалось сохранить семью, лишь 10% отмечали временные трудности.

Выявлены различия между группами при анализе вопроса о сексуальной деятельности. Среди опрошенных 29 пациентов основной группы имели регулярную половую жизнь до операции (19 женщин и 10 мужчин), в группе сравнения – 34 (21 женщина и 13 мужчин). У женщин обеих групп половая жизнь после операции не изменилась. Однако у 2 пациенток группы сравнения (9,5%) первое время отмечался болевой синдром в нижних отделах живота и промежности, создававший определенные трудности. У 2 пациентов (15,3%) группы сравнения половая жизнь сильно нарушилась (тяжелые нарушения эрекции), еще у двух нарушился процесс эякуляции (отсутствие семяизвержения). Лучшие показатели отмечены после лапароскопической операции. В основной группе 2 пациента имели незначительные нарушения эрекции временного характера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по данным сравнительного анкетирования и опроса двух групп пациентов, перенесших лапароскопические и открытые операции при раке прямой кишки, при общей сопоставимости обеих групп пациентов ($p=0,19$) в основной группе функциональные показатели качества жизни оказались более высокими, чем в группе сравнения. Не следует забывать также о высоком риске развития послеоперационных вентральных грыж после широкой лапаротомии и, напротив, о хорошем косметическом эффекте после лапароскопического доступа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В.Б., Александров К.Р. Лапароскопическая технология в колоректальной хирургии. Труды III-й Московской Ассамблеи «Здоровье столицы» (Москва, 16-17 декабря 2004 г.). М.: 2004; 142.
2. Александров В.Б. и др. Лапароскопические технологии в колоректальной хирургии. Эндоскопическая хирургия. 2004; 1: 6-7.
3. Воробьев Г.И., Шелыгин Ю.А. и др. Непосредственные и отдаленные результаты лапароскопически-ассистированных операций у больных раком ободочной кишки. Эндоскопическая хирургия. 2004; 1.
4. Bretagnol F. et al. The oncological safety of laparoscopic total mesorectal excision with sphincter preservation for rectal carcinoma. Surg. Endosc. 2005; 19(7): 892-896.
5. Chamlou R., Parc Y., Simon T., Bennis M., Dehni N., Parc R., Tired E. Long-term results of intersphincteric resection for low rectal cancer. Ann. Surg. 2007; 246(6): 916-921; discussion 921-922.
6. Fichera A., Michelassi F. Long-term prospective assessment of functional results after proctectomy with coloanal anastomosis. J. Gastrointest. Surg. 2001; 5(2): 153-157.
7. Fleshman J.W. et al. Laparoscopic vs. open abdominoperineal resection for cancer. Dis Colon Rectum. 1999; 42: 930-939.
8. Fürst A., Edl H., Zirngibl H., Bödeker H., Jauch K.W. Significance of inter-sphincter rectal resection with colo-anal anastomosis in deep seated rectal carcinoma. Zentralbl Chir. 2000; 125(12): 954-960.
9. Hartley J.E. et al. Total Mesorectal excision: assessment of the laparoscopic approach. Dis Colon Rectum. 2001; 44: 315-321.
10. Hong D. et al. Laparoscopic vs. open resection for colorectal adenocarcinoma. Dis Colon Rectum. 2001; 44: 10-19.
11. Jayne D.G., Guillou J.P., Thorpe H. et al. Randomized Trial of Laparoscopic-Assisted Resection of Colorectal Carcinoma: 3-Year Results of the UKMRC CLASICC Trial Group. JCO. 2007; 20: 3061-3068.
12. McAnena O.J., Heald R.J., Lockhart-Mummery H.E. Operative and functional results of total mesorectal excision with ultra-low anterior resection in the management of carcinoma of the lower one-third of the rectum. Surg. Gynecol Obstet. 1990; 170(6): 517-521.
13. Miyajima N., Fukunaga M., Hasegawa H. et al. Results of a multicenter study of 1,057 cases of rectal cancer treated by laparoscopic surgery. Surg. Endosc. 2009; 23: 113-118.
14. Joo J.S., Latulippe J.F., Alabaz O., Weiss E.G., Noguera J.J., Wexner S.D. Long-term functional evaluation of straight coloanal anastomosis and colonic J-pouch: is the functional superiority of colonic J-pouch sustained? Dis Colon Rectum. 1998; 41(6): 740-746.
15. Moloo H.M., Poulin E.C., Mamazza J. et al. Laparoscopic resection for colorectal cancer: long term outcomes in a prospective study of 359 cases. Thesis of 12th International congress of the European Association for endoscopic surgery. – Barcelona. 2004. 72.
16. Ng S.S., Leung K.L., Lee J.F. et al. Long-term morbidity and oncologic outcomes of laparoscopic-assisted anterior resection for upper rectal cancer: ten-year results of a prospective, randomized trial. Dis Colon Rectum. 2009; 52(4): 558-566.
17. Palanivelu C. et al. Laparoscopic anterior resection and total mesorectal excision for rectal cancer: a prospective nonrandomized study. Int J Colorectal Dis. 2007; 22(4): 367-372.
18. Patankar S.K. et al. Prospective comparison of laparoscopic vs. open resections for colorectal adenocarcinoma over a ten-year period. Dis Colon Rectum. 2003; 46(5): 601-611.
19. Riegler M. et al. Survival following oncological minimally invasive colorectal procedures. Acta Chirurgica Austriaca. 2002; 34(6): 354.

**ОСЛОЖНЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО
ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА
МАТКИ I СТАДИИ**Дунаева Е.А.², Новикова Е.Г.², Бойко А.В.¹,
Демидова Л.В.¹, Телеус Т.А.¹¹ Московский научно-исследовательский онкологический
институт им. П.А. Герцена,
отделения лучевой терапии,
² онкогинекологии, Москва, Россия

Контакты: Дунаева Е.А. E-mail: onkoDEA@yandex.ru

Риск развития интра- и послеоперационных осложнений вследствие обширной лимфодиссекции вызывает дискуссию о необходимости дополнения экстирпации матки с придатками (ЭМП) регионарной лимфаденэктомией (ЛЭ) у больных раком тела матки (РТМ) I стадии. Изучение хирургических осложнений также крайне важно для возможности реализации 2 этапа комбинированного лечения – послеоперационного облучения, соблюдения сроков начала лучевой терапии.

Цели и задачи работы – определить частоту и структуру хирургических осложнений после различных объемов оперативного вмешательства у больных РТМ I стадии.

Материалы и методы. Исследование основано на ретроспективном анализе 221 истории болезни больных РТМ I стадии (FIGO 2003), которым выполнено хирургическое вмешательство в период с 1994 по 2003 г. в МНИОИ им. П.А. Герцена. У 158 (71,5%) пациенток выполняли ЭМП у 63 (28,5%) – ЭМП с 2х-сторонней подвздошно-обтураторной ЛЭ. 66 больным РТМ I стадии в послеоперационном периоде проведена лучевая терапия в сроки от 2 до 4 недель.

Результаты. В группе ЭМП и ЭМП+ЛЭ не зафиксировано интраоперационной летальности. Осложнения во время проведения операции были минимальными как в группе с ЭМП (0,6%), так и в группе с ЭМП+ЛЭ (1,6%). Различия касались объема кровопотери и продолжительности операции. Так, средняя величина кровопотери в группе ЭМП и ЭМП+ЛЭ составила 554,7 и 800,0 мл соответственно. При этом отмечалась тенденция к увеличению объема теряемой крови при нарастании индекса массы тела в обеих группах. Выполнение ЛЭ удлинило время операции в среднем на 90 мин по сравнению с простой ЭМП.

Послеоперационные осложнения развились примерно одинаково в группах после ЭМП (7,0%) и ЭМП+ЛЭ (7,9%). Лимфоциты возникли в 7,9% (5/63) больных с произведенной тазовой ЛЭ.

Из 72 больных, которым была рекомендована послеоперационная лучевая терапия, у 66 (91,7%) облучение начато в сроки 2-4 нед. Облучение не проведено всего у 6 (8,3%) больных. Только у 1 (1,4%) из них причиной к отказу от лучевой терапии послужило послеоперационное осложнение, у остальных 5 женщин 74-76 лет – тяжелая сопутствующая патология.

Выводы. Расширение объема оперативного вмешательства в целом незначительно утяжеляет общее состояние больных. У подавляющего большинства пациенток РТМ I стадии хирургические осложнения не

**SURGICAL COMPLICATIONS
IN PATIENTS WITH STAGE I
ENDOMETRIAL CANCER**Dunaeva E.A.², Novikova E.G.², Boiko A.V.¹,
Demidova L.V.¹, Teleus T.A.¹¹ P.A. Herzen Moscow Cancer
Research Institute,
the department of radiotherapy,
² the department of oncogynaecology, Moscow, Russia

Contact: Dunaeva E.A. E-mail: onkoDEA@yandex.ru

The risk of intra- and post-operative complications due to extended lymphadenectomy provokes a discussion about requirement for adding regional lymphadenectomy to hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy in patients with endometrial cancer stage I. The study of surgical complications is important for performing of second stage of combined modality treatment – postoperative radiotherapy, starting radiotherapy in a proper time.

The objective: to determine the rate and structure of surgical complications after different operations.

Materials and methods. The retrospective study included data of 221 patients with endometrial cancer Stage I who underwent surgical treatment in the period from 1994 to 2003 in P.A. Herzen MCRI. 158 (71.5%) patients had to hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy (HBSO) and 63 (28.5%) patients – HBSO with pelvic lymphadenectomy (LA). 66 patients with endometrial cancer Stage I underwent postoperative radiotherapy in 2-4 weeks.

Results. There was no intraoperative death in both groups. Complications during operations were minimal both for HBSO group (0.6%) and HBSO with pelvic lymphadenectomy group (1.6%). The main differences were in blood loss and the duration of surgery. Thus, the average blood loss for HBSO group and HBSO with pelvic lymphadenectomy group was 554.7 ml (100-2500 ml) and 800 ml (100-3000 ml), respectively.

There were tendency to increase blood loss with growing of body mass index in both groups. Lymphadenectomy increased the operation time for 90 minutes as compared to HBSO.

Surgical complications rate was similar in both groups: HBSO (7.0%) and HBSO with LA (7.9%). Lymphocysts developed in 7.9% (5/63) of patients with pelvic LA.

From 72 patients with recommended postoperative radiotherapy 66 (91.7%) patients had the start of treatment in 2-4 weeks. There were no radiotherapy in 6 (8.3%) patients. Only 1 patients (1.4%) had postoperative complication as the cause of withdrawal of radiotherapy. The other 5 women of 74-76 y.o. had severe co-morbidity as limitations for radiotherapy.

Conclusions: the extension of surgical treatment do not worsen significantly the general condition of patients. The majority of patients with stage I endometrial cancer with surgical complications did not need long-time rehabilitation and could have postoperative radiation within proper time.

Key words: stage I endometrial cancer, intraoperative and postoperative complications.

требуют длительной реабилитации и позволяют, при имеющихся показаниях, провести послеоперационное облучение в рекомендованные сроки.

Ключевые слова: рак тела матки I стадии, интраоперационные и послеоперационные осложнения.

ВВЕДЕНИЕ

Основным методом лечения больных раком тела матки (РТМ) I стадии является хирургический. Следующие обстоятельства определяют это положение. Возросший уровень диагностики с использованием 3Д-ультрасонографии, цветного доплеровского картирования, обзорной цервикогистероскопии и прицельной биопсии материала для морфологического исследования позволяет выявить РТМ на ранних стадиях. Так, не являясь визуально доступной локализацией, РТМ у 78,6% больных определяются в I-II стадии [1, 2].

Более низкие показатели 5-летней безрецидивной и общей выживаемости после самостоятельной лучевой терапии (60-85%) по сравнению с хирургическим и комбинированным лечением также объясняет приоритет оперативного этапа [3, 4].

Качественно новый уровень анестезиологического пособия позволяет выполнить хирургическое вмешательство большинству больных. Вследствие тяжелой сопутствующей патологии операции не подвергается только 13% больных РТМ ранних стадий. Пожилой возраст сам по себе рассматривается как второстепенный фактор и не может быть причиной отказа в операции [5, 6].

Вместе с тем, вопрос об объеме хирургического вмешательства у пациенток РТМ I стадии остается дискуссионным как в силу целесообразности удаления лимфатического коллектора, так и технической возможности лимфаденэктомии у соматически отягощенного контингента больных РТМ [7-9].

Риск развития интра- и послеоперационных осложнений вследствие обширной лимфодиссекции вызывает дискуссию о необходимости дополнения экстирпации матки с придатками (ЭМП) регионарной лимфаденэктомией (ЛЭ) [7, 8, 10]. Изучение хирургических осложнений также крайне важно для возможности реализации 2 этапа комбинированного лечения – послеоперационного облучения, соблюдения сроков начала лучевой терапии.

Цели исследования – определить частоту и структуру хирургических осложнений после различных объемов оперативного вмешательства у больных РТМ I стадии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведен ретроспективный анализ 221 истории болезни больных РТМ I стадии (FIGO 2003), которым выполнено хирургическое вмешательство в период с 1994 по 2003 г. в МНИОИ

им. П.А. Герцена. У 158 (71,5%) пациенток выполняли ЭМП, у 63 (28,5%) – ЭМП с 2х-сторонней подвздошно-обтураторной ЛЭ.

На основании послеоперационного морфологического исследования у 17 (7,7%) пациенток диагностирована IA стадия (pT1aN0M0), у 153 (69,2%) больных – IB стадия (T1bN0M0), у 51 (23,1%) – IC стадия (T1cN0M0).

Преобладающей гистологической структурой была эндометриоидная аденокарцинома (188/85,1%), различной степени дифференцировки: G1 – у 81 (43,1%), G2 – у 86 (45,7%) и G3 – у 21 (11,2%). На долю железисто-плоскоклеточного рака приходилось 10,4% (23). Светлоклеточная (мезонефральная) аденокарцинома встретилась у 10 больных (4,5%).

Большинству больных РТМ I стадии было выполнено хирургическое вмешательство в объеме простой ЭМП. Вместе с тем, с 1999 г. отмечено увеличение частоты выполняемых операций и расширения объема с удалением тазового лимфатического барьера с 15,9 до 36,8%, т. е. в 2,3 раза ($p=0,0007$) (Рис. 1).

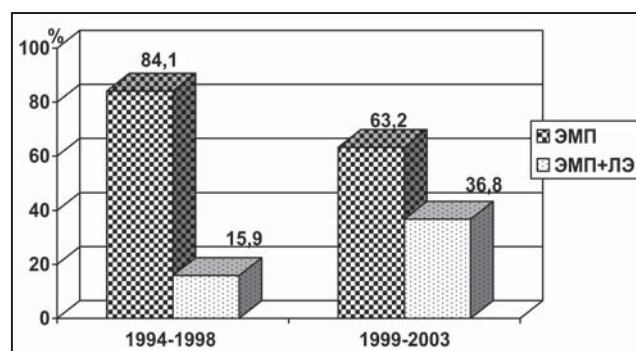


Рис. 1. Динамика оперативной деятельности у больных РТМ I стадии в 1994-1998 и 1999-2003 гг.

В соответствии с классификацией ВОЗ основной контингент был представлен женщинами среднего и пожилого возрастов (50-69 лет) – 167 (75,6%) пациенток. В то же время аденокарцинома эндометрия у лиц репродуктивного возраста (до 44 лет) встретилась в 9,5%, возраст самой молодой пациентки – 18 лет. Средний возраст больных составил $57,1 \pm 3,3$ года.

Средний возраст пациенток, которым произведена простая ЭМП и ЭМП+ЛЭ, был сопоставим ($58,7 \pm 3,9$ и $54,1 \pm 6,3$ года соответственно). Однако при повозрастном делении больных оказалось, что женщинам до 60 лет достоверно чаще выполняли тазовую лимфаденэктомию (77,8% против 52,5%, $p=0,0006$), тогда как у больных старше 60 лет ограничивались простой ЭМП (47,5% против 22,2%) (Табл. 1).

Между тем, всего 28,5% (63/221) пациенток подверглись тазовой лимфодиссекции. Объясняется это, помимо отсутствия в определенных клинических ситуациях необходимости расширения

Возраст (лет)	Методы лечения, абс. ч. (%)	
	ЭМП	ЭМП+ЛЭ
<19	-	1 (1,6%)
20-29	1 (0,6%)	-
30-39	5 (3,2%)	3 (4,8%)
40-49	17 (10,7%)	8 (12,7%)
50-59	60 (38,0%)	37 (58,7%)
60-69	57 (36,1%)	13 (20,6%)
70-79	18 (11,4%)	1 (1,6%)
Всего	158 (100%)	63 (100%)
Средний возраст (годы)	58,7±3,9	54,1±6,3

объема операции, еще и отягощенным соматическим статусом больных РТМ (Табл. 2).

Наиболее выраженными клиническими проявлениями эндокринно-обменных нарушений явились изменения со стороны жирового обмена. Так, превышение массы тела, определяемое по индексу массы тела (ИМТ), отмечено у 173 (78,3%) больных, из них у 86 (49,7%) пациенток – ожирение I-III ст.

Сопутствующие заболевания	Число больных		%
	абс. ч.	абс. ч.	
Гипертоническая болезнь (ГБ) или артериальная гипертензия (АГ)	115		52,0
Ожирение I-II-III степени	86	173	78,3
Избыточная масса тела (предожирение)	87	173	78,3
Хронический холецистит, желчнокаменная болезнь (ЖКБ)	72		32,6
Ишемическая болезнь сердца (ИБС)	54		24,4
Сахарный диабет, нарушение толерантности к глюкозе (НТГ)	31		14,0
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	41		18,6
Аппендэктомия	38		17,2
Хронические заболевания почек, мочекаменная болезнь, хронический цистит	35		15,8
Патология щитовидной железы (струма Хашимото, узлы в щитовидной железе)	29		13,1
Гепатиты А, В или С (в анамнезе)	19		8,6
Хронический тонзиллит	18		8,1
Язвенная болезнь 12-типерстной кишки	16		7,2
Хронический энтероколит, колит	14		6,3

Ожирение (предожирение) сочеталось с гипертонической болезнью/артериальной гипертензией в 45,2% (100 больных).

Независимо от массы тела, частота производимых лимфаденэктомий за два последних 5-летия увеличилась как в группе больных с нормальным весом (с 17,3 до 38,6%, т. е. в 2,2 раза; $p=0,009$), так и в группе с ожирением (с 13,9 до 34,0%, т. е. в 2,4 раза; $p=0,03$) (Табл. 3).

Сахарный диабет 2 типа или нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) встретились у 31 (14,0%) пациентки с РТМ.

Простую ЭМП производили с соблюдением онкологических принципов. Для адекватной ревизии

ИМТ	1994-1998 гг.		1999-2003 гг.	
	ЭМП	ЭМП+ЛЭ	ЭМП	ЭМП+ЛЭ
<30 n=135	43 (82,7%)	9 (17,3%)	51 (61,4%)	32 (38,6%)
≥30 n=86	52	83	33 (66,0%)	17 (34,0%)
Всего, n=221	31 (86,1%)	5 (13,9%)	36	50
	88		133	

органов малого таза и брюшной полости использовали нижнюю срединную лапаротомию. По вскрытии брюшной полости обязательно выполняли смывы с брюшины поддиафрагмальной области, латеральных каналов и малого таза. После проведенной ревизии производили экстрафасциальную ЭМП. Поскольку опухоль у большинства больных была ограничена телом матки, верхнюю треть влагалища не удаляли. Также при выявлении подозрительных объемных образований выполняли биопсию или тотально подвергали их удалению [11].

Модифицированная расширенная ЭМП по Я.В. Бохману заключалась в тотальной экстирпации матки с придатками, небольшой влагалищной манжеткой и иссечением *en bloc* клетчатки с общими, наружными и внутренними подвздошными и obturatorными лимфатическими узлами. Так как вероятность прямого прорастания опухоли тела матки в клетчатку параметриев и паракольпиев невелика, то верхнюю треть влагалища и клетчатку паракольпиев не удаляли, что освобождало хирургов от необходимости выделения устьев мочеточников. Таким образом, ЭМП дополняли 2х-сторонней подвздошно-обтураторной ЛЭ [12].

Количество удаленных лимфатических узлов варьировало от 1 до 30 (среднее – 9,6).

Через 2-4 недели после операции 66 (29,9%) больным РТМ I стадии проведена лучевая терапия.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Интраоперационные осложнения

В группе больных, которым выполнили ЭМП, интраоперационные осложнения наблюдали у 1 из 158 больных (0,6%). Ни одно из них не закончилось летальным исходом. У единственной пациентки произошло десерозирование сигмовидной кишки на 3-х участках, без вскрытия просвета, потребовавшее наложение серозно-серозных швов.

В группе больных с ЭМП+ЛЭ интраоперационные осложнения наблюдали у 1 (1,6%) пациентки: потребовалось дополнительное лигирование сосудов стенки мочевого пузыря в связи с кровотечением. Летальных исходов не было.

Анализ величины кровопотери выявил прямую зависимость от масштаба хирургического вмешательства. При его расширении достоверно увеличи-

вался объем теряемой крови. Так, средняя величина кровопотери в группах ЭМП и ЭМП+ЛЭ составила $554,7 \pm 402,4$ мл (от 100 до 2500 мл) и $819,0 \pm 644,0$ мл (от 100 до 3000 мл) соответственно ($p=0,004$).

Среди показателей функционального состояния больных, таких как ИМТ, сопутствующие заболевания, возраст, ECOG, влияющих на интраоперационную кровопотерю, достоверных различий не выявлено ($p=0,25, 0,80, 0,24, 0,08$ соответственно), однако отмечалась тенденция к возрастанию кровопотери с повышением ИМТ (Рис. 2).

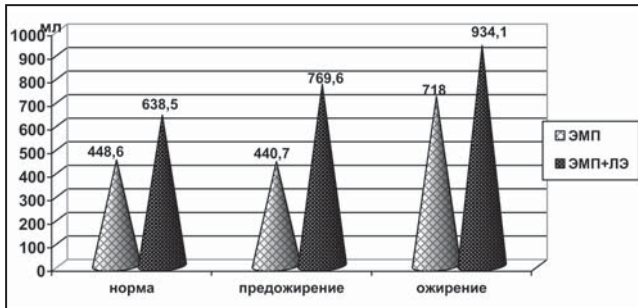


Рис. 2. Величина кровопотери в зависимости от ИМТ и объема оперативного вмешательства.

Аналогичная тенденция прослеживалась в зависимости от ECOG, когда у больных с понижением функционального состояния увеличивался объем кровопотери. В то же время при функциональном состоянии больных в 3 балла с целью максимального сокращения кровопотери и продолжительности хирургического вмешательства выполнение операций поручали высококвалифицированным хирургам и анестезиологам, поэтому у 8 больных с 3 степенью тяжести по ECOG объем теряемой крови был минимальный (100–400 мл) (Табл. 4).

Выполнение тазовой ЛЭ удлинило время операции в среднем на 90 мин по сравнению с ЭМП ($157,9 \pm 28,2$ и $68,0 \pm 21,1$ мин соответственно).

Послеоперационные осложнения

Мы учитывали все возникшие осложнения – от самых незначительных до серьезных, угрожавших жизни больных. Ни одно осложнение не привело к летальному исходу.

Послеоперационные осложнения развились примерно одинаково в группах после ЭМП и ЭМП+ЛЭ.

В группе больных, которым была выполнена ЭМП, осложнения возникли у 49 человек из 158 (31,0%). Общее количество осложнений – 53, удельный вес – 0,34. У 3 пациенток имело место по 2 осложнения.

У 63 больных, которым была произведена ЭМП+ЛЭ, осложнения наблюдались у 19 (30,2%). Общее количество послеоперационных осложнений (с учетом сочетания двух осложнений у трех пациенток) – 22, удельный вес – 0,35.

Структура послеоперационных осложнений представлена в таблице 5.

Вид осложнений	ЭМП, n=158		ЭМП+ЛЭ, n=63		Всего	
	n	%	n	%	n	%
Инфильтраты в малом тазу (осложненные)*	20+1*	13,3	11	17,4	32	14,5
Лимфокисты	-	-	2	3,2	2	0,9
Гематома в малом тазу (осложненные)*	3+1*	2,5	2	3,2	6	2,7
Культиты	2	1,3	-	-	2	0,9
Диастаз п/о раны	1	0,6	-	-	1	0,5
Гематома и/или инфильтрат в п/о рубце	3	1,9	2	3,2	5	2,3
Внутрибрюшное кровотечение	1	0,6	-	-	1	0,5
Цистит	3	1,9	-	-	3	1,4
Острая почечная недостаточность	3	1,9	-	-	3	1,4
Пиелонефрит	2	1,3	-	-	2	0,9
Атония мочевого пузыря	1	0,6	-	-	1	0,5
Почечная колика	1	0,6	-	-	1	0,5
ТЭЛА	2	1,3	-	-	2	0,9
Острый тромбоз вен нижних конечностей/ острый тромбофлебит	1	0,6	2	3,2	3	1,4
Стрессовая язва 12-типерстной кишки	1	0,6	-	-	1	0,5
Гипертонический криз ± пароксизмальная тахикардия	3	1,9	3	3,2	6	2,7
Длительный субфебрилитет неясного генеза	2	1,3	-	-	2	0,9
Обострение хронического холецистита	1	0,6	-	-	1	0,5
Обострение хронического пиелонефрита	1	0,6	-	-	1	0,5
Общее число осложнений	53	33,5	22	34,9	75	33,9
Число больных с осложнениями	49	31,0	19	30,2	68	30,8

Среди послеоперационных осложнений чаще наблюдались инфильтраты в малом тазу – у 32 (14,5%) больных. В основном они были небольших размеров, локализовались в прикультевых отделах и не требовали активной хирургической тактики, через 2 месяца при контрольном обследовании они не определялись. Только у 1 (0,6%) пациентки на 12-е сутки после ЭМП потребовалось дренирование воспалительного инфильтрата.

Возросший уровень ультразвуковой диагностики позволил дифференцировать послеоперационные инфильтраты от образований жидкостной природы. Гематомы в малом тазу выявлены в 6 (2,7%) наблюдениях. У 1 (0,5%) пациентки ее размеры составили 7 x 8 x 8 см. Благодаря развитию малоинвазивных методов лечения, удалось избежать повторного оперативного вмешательства. Под контролем УЗИ на 11 сутки после ЭМП была произведена пункция и аспирация гематомы. У остальных 5 больных проведена консервативная противовоспалительная терапия с положительным эффектом.

Возникновение лимфокист в группе больных с ЭМП+ЛЭ наблюдалось всего у 2 (3,2%) из 63 боль-

ных на 6 и 8 сутки. В то же время инфильтратов в этой группе наблюдалось больше по сравнению с группой больных после простой ЭМП (17,4 и 13,3% соответственно). Возможно, что в первые годы становления ультразвукографии любые визуализируемые образования в малом тазу, в том числе и жидкостной природы, трактовались как инфильтраты. В последующие годы появились довольно четкие эхографические дифференциальные диагностические признаки лимфокист, гематом и инфильтратов. Вместе с тем, существуют и объективные трудности в интерпретации данных УЗИ, заключающиеся в наличии сопутствующего ожирения у преобладающего большинства больных РТМ, не позволяющего иногда визуализировать имеющуюся патологию в виде лимфоцеле. Примером служат 3 больных с ожирением, у которых послеоперационный период протекал без осложнений. Однако в сроки от 1 до 10 мес. (1, 5, 10 мес.) у них были диагностированы лимфокисты в малом тазу, причем у 2 из них больших размеров: 10-12 см и 8,9 x 6,1 x 4,4 см. Больные предъявляли жалобы на боли либо внизу живота, либо в соответствующей подвздошной области, но без нарушения физиологических отпавлений и без температурной реакции. Потребовалась длительная противовоспалительная терапия. Исходом излечения явилась грубая рубцовая тяжистость в параметриях. Таким образом, всего лимфоцеле зарегистрировано у 7,9% (5/63) больных.

Следует отметить, что у больных с возникшими забрюшинными лимфокистами среднее значение ИМТ составило 30,8, при их отсутствии – 28,9.

Следующими по частоте осложнениями были различного рода урологические нарушения. Они наблюдались у 11 (5,0%) больных, причем у всех после ЭМП. В структуре урологических осложнений на долю послеоперационных циститов приходилось 3 наблюдения, острая почечная недостаточность развилась также у 3 больных. Частота пиелонефритов составила 3 наблюдения (1 – как обострение хронического заболевания). Атония мочевого пузыря диагностирована всего у 1 (0,5%) больной.

Высокий уровень анестезиологического и реанимационного ведения больных как в интра-, так и послеоперационном периоде подтвержден тем, что только у 6 (2,7%) больных после операции возникло обострение гипертонической болезни (артериальной гипертензии) в виде гипертонического криза, у 1 из них в сочетании с нарушением ритма по типу пароксизмальной тахикардии. Ни в одном наблюдении не зафиксирован инфаркт миокарда, хотя каждая вторая (56,6%) пациентка имела сердечно-сосудистую патологию.

Такое грозное осложнение, как тромбоэмболия мелких ветвей легочной артерии (ТЭЛА), имело место всего у 2 (0,9%) пациенток на 1 и 3 сутки после операции. У одной больной в анамнезе было указа-

ние на варикозное расширение вен нижних конечностей. Вторая пациентка имела наследственную овалоцитарную гемолитическую анемию.

Серьезное послеоперационное осложнение в виде внутрибрюшного кровотечения возникло у 1 (0,6%) больной в 1-е сутки. При ревизионной релапаротомии в брюшной полости – около 1 л лизированной крови и 1,5 л сгустков. Источник кровотечения не установлен. На фоне профилактической гемостатической терапии у пациентки на следующий день (2-е сутки после операции) зарегистрирована ТЭЛА мелких ветвей. Данная больная на момент операции состояла на учете у гематолога по поводу сублейкемического миелоза. В связи с выявленным у нее РТМ по витальным показателям рекомендовано оперативное лечение. Наличие сублейкемического миелоза у гематологических больных повышает риск развития кровотечения, даже при отсутствии хирургического вмешательства, на 25%. Поэтому возникшее осложнение у данной пациентки можно отнести к разряду ожидаемых. Пациентка жива, время наблюдения составляет 63 мес.

Острая почечная недостаточность (ОПН) в послеоперационном периоде развилась у 3 (1,9%) больных. Быстро начатые реанимационные мероприятия купировали явления ОПН у 2-х из них. У 1 пациентки исходом нарушения функции почек явилась хроническая почечная недостаточность. Пациентку наблюдает нефролог. Прослеженность – 49 мес. без прогрессирования основного заболевания.

Из 72 больных, которым была рекомендована послеоперационная лучевая терапия, у 66 (91,7%) пациенток облучение реализовано и начато в сроки от 2 до 4 нед. Лучевая терапия не проведена всего у 6 (8,3%) больных. Только у 1 (1,4%) из них причиной отказа от лучевой терапии послужил каскад послеоперационных осложнений (кровотечение в брюшной полости, релапаротомия, развитие ТЭЛА). У остальных 5 женщин 74-76 лет ограничением к облучению явилась тяжелая сопутствующая патология.

ОБСУЖДЕНИЕ

Осложнения, возникающие в результате агрессивного хирургического лечения, включающего удаление лимфатических узлов, по данным различных авторов, варьируют от 5 до 20%.

Так, J. Fanning сообщил о 265 пациентках РТМ I-II стадии, которые подверглись ЭМП и тазово-парааортальной ЛЭ (средний возраст – 68 лет, средний вес – 75,2 кг). 77% больных имели сопутствующие заболевания. Медиана наблюдения составила 4,4 года. Серьезные хирургические осложнения отмечены в 5% наблюдений, осложнения после лимфаденэктомии отсутствовали [13].

Другие авторы также утверждают, что осложнения после лимфодиссекции в руках квалифици-

рованных хирургов-онкогинекологов редки [14]. При этом отмечается увеличение средней продолжительности времени операции (119 мин) и потери крови (2000 мл).

Однако С.Р. Moggrow с соавт. в рамках протокола GOG-33 показали, что общая частота всех осложнений после ЭМП и селективной ЛЭ составляет почти 20%, около 6% осложнений являются тяжелыми [15].

Результаты итальянского многоцентрового рандомизированного исследования по изучению частоты хирургических осложнений у 310 больных РТМ показали их увеличение в группе с тазово-парааортальной ЛЭ. Так, ранние и поздние послеоперационные осложнения зафиксированы в группе с ЛЭ в 16 и 15% соответственно, тогда как у больных без ЛЭ они отмечены в 6 и 8% [16].

К числу серьезных интраоперационных осложнений относится повреждение мочеочника. Возможно ранение мочевого пузыря, тонкой, толстой кишки. Во время операции опасно как артериальное, так и венозное кровотечение вследствие ранения сосудов при лимфаденэктомии или биопсии лимфатических узлов.

В структуре послеоперационных осложнений отмечаются вторичные кровотечения (0,4%), раневая инфекция (3,5-3,7%), тромбоэмболия легочной артерии (1,5%), развитие мочевого (1,7%) и кишечных свищей, кишечная непроходимость (1,0%) [17].

Повышение радикальности оперативного вмешательства на лимфатических путях приводит к характерному послеоперационному осложнению – образованию забрюшинных лимфатических кист.

Однако диагностические подходы к выявлению лимфокист у европейских и американских хирургов диаметрально противоположны. Так, онкогинекологи североамериканского континента редко встречаются с этим осложнением после расширенных операций. При этом обращает на себя внимание пребывание пациенток в стационаре в среднем от 3,3 до 7 дней [14]. УЗИ/КТ исследование органов малого таза в послеоперационном периоде врач назначает только в случае возникновения клинических симптомов: жалоб на боли внизу живота, повышение температуры тела [18].

Зарубежные коллеги из европейских стран и отечественные исследователи занимают активную позицию в отношении обнаружения лимфоцеле. Так, независимо от клинических симптомов, рекомендуется оценивать состояние малого таза по данным УЗИ, начиная с 7 дня после расширенной гистерэктомии или через 2-3 дня после удаления дренажа, т. е. в сроки образования лимфокист. Такое активное динамическое наблюдение предопределяет высокую частоту их выявления (от 11,3 до 83%) [19, 20].

В целом, можно заключить, что вариабельность частоты осложнений, вероятно, кроется как в спо-

рах их оценки, так и в масштабах выполняемых манипуляций во время операции: от биопсии лимфоузлов до тазово-парааортальной ЛЭ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В группе ЭМП и ЭМП+ЛЭ не зафиксировано интраоперационной летальности. Осложнения во время проведения операции минимальные как в группе с ЭМП (0,6%), так и в группе с ЭМП+ЛЭ (1,6%). Различия касаются объема кровопотери и продолжительности операции. Так, средняя величина кровопотери в группе ЭМП и ЭМП+ЛЭ составила 554,7 и 800,0 мл соответственно. При этом отмечалась тенденция к увеличению объема теряемой крови при нарастании индекса массы тела в обеих группах. Выполнение ЛЭ удлинило время операции в среднем на 90 мин по сравнению с простой ЭМП.

Послеоперационные осложнения развились примерно одинаково в группах после ЭМП и ЭМП+ЛЭ. Наиболее серьезные осложнения, наблюдаемые в группе ЭМП, возникли у 7,0% больных: ОПН – у 3, гипертонический криз – у 3, ТЭЛА – у 2, острый тромбоз вен нижних конечностей – у 1, внутрибрюшное кровотечение – у 1, атония мочевого пузыря – у 1 больной; в группе ЭМП+ЛЭ осложнения наблюдали в 7,9%: острый тромбоз вен нижних конечностей – у 2, гипертонический криз – у 3 пациенток.

Лимфокисты возникли у 7,9% больных с ЭМП+ЛЭ. Ни в одном случае эта клиническая ситуация не потребовала дополнительного хирургического пособия.

Таким образом, расширение объема оперативного вмешательства в целом незначительно утяжеляет общее состояние больных.

У подавляющего большинства пациенток РТМ I стадии хирургические осложнения не требуют длительной реабилитации и позволяют, при имеющихся показаниях, провести послеоперационное облечение в рекомендованные сроки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2010 году. М.: 2011.
2. Востров А.Н., Трофимова Е.Ю., Новикова Е.Г. и др. Комплексная ультразвуковая диагностика рака эндометрия: Пособие для врачей. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2004; 27.
3. Крикунова Л.И. Лучевая терапия рака матки. Практическая онкология 2004; 5(1): 33-40.
4. Марьяна Л.А., Чехонадский В.Н., Нечушкин М.И., Киселева М.В. Рак шейки и тела матки. Лучевая терапия с использованием калифорния-252, кобальта-60, цезия -137. М.: Вантана-Граф. 2004; 432.
5. Lurian J.R. Uterine Cancer. Novak's Gynecology (12th ed.). Williams & Wilkins. 1996. 1057-1092.
6. Bergamini V., Cromi A., Ghezzi F. et al. Primary radical surgery for endometrial carcinoma in elderly patients. Int J Gynecol Cancer 2004; 14(1): 136.

7. *Hernandez E.* Endometrial adenocarcinoma: a primer for the generalist. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2001; 28(4): 743-757.
8. *Franchi M., Ghezzi F., Riva C.* et al. Postoperative complications after pelvic lymphadenectomy for the surgical staging of endometrial cancer. *J. Surg. Oncol.* 2001; 78: 232-237.
9. *Burke T.W., Eifel P.J., Muggia F.M.* Cancers of the Uterine Body. In *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (6th ed.). Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 32-35.
10. *Нечушкина В.М., Кузнецов В.В., Лазарева Н.И., Морхов К.Ю.* Современные представления о лечении рака тела матки. *Сибирский онкологический журнал* 2007; Прил. 1: 65-68.
11. Атлас онкологических операций. Под ред. Б.Е. Петерсона, В.И. Чиссова, А.И. Пачеса. – М.: Медицина, 1987; 536.
12. *Бохман Я.В.* Руководство по онкогинекологии. – СПб.: Фолиант. 2002; 540.
13. *Fanning J.* Long-term survival of intermediate risk endometrial cancer (stage IG3, IC, II) treated with full lymphadenectomy and brachytherapy without teletherapy. *Gynecol. Oncol.* 2001; 82: 371-374.
14. *Rittenberg P.V.C., Lotocki R.J., Heywood M.S.* et al. High-risk surgical stage I endometrial cancer: outcomes with vault brachytherapy alone. *Gynecol. Onco.* 2003; 89: 288-294.
15. *Morrow C.P., Bundy B.N., Kurman R.J.* et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium. A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol. Oncol.* 1991; 40: 55-65.
16. *Benedetti-Panici P., Tateo S., Mangili G.* et al. Complications of lymphadenectomy in endometrial cancer. Results of a prospective randomized multicentric clinical trial. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2004; 14(1): 6.
17. *Orr J.W.J., Holimon J.L., Orr P.F.* Stage I corpus cancer: is teletherapy necessary? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997; 176(4): 777-788; discussion 788-789.
18. *Eltabbakh G.H., Wong C.* Commentary for Postoperative complications after pelvic lymphadenectomy for the surgical staging of endometrial cancer. *J. Surg. Oncol.* 2001; 78: 237-240.
19. *Олейник В.В., Максимов С.Я., Симонов Н.Н.* и др. Лимфатические кисты после расширенных операций по поводу рака шейки и тела матки. *Вопр. онкологии.* 1997; 43(3): 335-339.
20. *Степанов С.О., Новикова Е.Г., Скрепцова Н.С.* Ультразвуковая диагностика и тактика при лимфоцеле после онкогинекологических операций. *Сибирский онкологический журнал.* 2009; 2(32): 25-30.

**ПРИМЕНЕНИЕ КАЛЬЦИЙ-
ФОСФАТНОГО БИОКЕРАМИЧЕСКОГО
МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ
КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ
ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ЗОНЫ****Решетов И.В., Филюшин М.М., Ратушный М.В.,
Васильев В.Н., Батухтина Е.В.***Московский научно-исследовательский онкологический
институт им. П.А. Герцена, Москва, Россия*

Контакты: Филюшин М.М. E-mail: filushin_m@mail.ru

Рассмотрены результаты ограниченных клинических испытаний биокерамических материалов для замещения дефектов сложной конфигурации и различного объема при реконструктивно-пластических операциях черепно-лицевой зоны.

Материалы и методы. Проведен анализ результатов замещения костных дефектов у 23 больных с различной черепно-орбито-лицевой локализацией опухолевого поражения, получавших лечение в отделении микрохирургии МНИОИ им. П.А. Герцена с 2003 по 2010 г.

В протокол клинических исследований вошли 23 пациента с опухолевым поражением черепно-лицевой зоны. Эпителиальные опухоли были диагностированы в 52,2% наблюдений, преобладал плоскоклеточный рак. В 86,9% наблюдений оперированы больные трудоспособного возраста. Все опухоли имели функционально-значимую и социально-важную локализацию: челюстно-лицевую (43,5%) и орорфарингеальную (26%). В связи с неоднородностью локализации опухолей, морфологии опухолевого процесса и методов проведенного лечения все наблюдения были разделены на 3 основные группы в зависимости от характера опухолевого процесса, выявленного на момент обращения: первая – пациенты с первичными опухолями (47,8%), вторая – с рецидивными опухолями (30,4%), третья – с дефектами челюстно-лицевой зоны без признаков рецидива на момент выполнения реконструктивно-пластической операции (21,7%).

Результаты. Полученные в ходе ранее проведенных экспериментальных исследований цитотоксичности и биосовместимости различных видов материалов на основе кальций-фосфатной биокерамики результаты позволили выделить наиболее подходящие варианты, приемлемые для использования в клинической практике по замещению костных дефектов: гидроксиапатит 60% – ТКФ 40% (размер гранул 300-600 мкм, пористость – 49, размер пор – 5-30 мкм) и карбонатзамещенный гидроксиапатит (размер гранул 300-600 мкм, пористость – 54, размер пор – 1-5 мкм).

В результате выполнения радикальных операций у всех больных были сформированы комбинированные дефекты черепно-челюстно-лицевой зоны, из них дефекты свода черепа – у 30,5% больных, орбитомаксиллярные – у 21,7%, дефекты нижней челюсти – у 21,7%. Резекции структур основания черепа (краниоорбито- и краниофациальные резекции) были выполнены у 6 (26,1%), из них в 2 наблюдениях – резекция твердой мозговой оболочки с образованием несовместимого с жизнью без одномоментного пластического закрытия

**THE USE OF CALCIUM
PHOSPHATE BIOCERAMICS
FOR CLOSURE
OF MAXILLO-FACIAL
DEFECTS****Reshetov I.V., Filushin M.M., Ratushnyi M.V.,
Vasiliev V.N., Batukhtina E.V.***P.A. Herzen Moscow Cancer
Research Institute, Moscow, Russia*

Contact: Filushin M.M. E-mail: filushin_m@mail.ru

The results of limited clinical trials of bioceramics for closure of defects of complex configuration and different extent for reconstructive and plastic surgery in cranio-facial zone are represented in the article.

Materials and methods: we analyzed outcomes of bone defects closure in 23 patients with tumors of different cranio-orbito-facial localization who received treatment in the department of microsurgery in P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute from 2003 to 2010.

The study included 23 patients with tumor in the cranio-facial region. Epithelial tumors occurred in 52.17% of cases, squamous cell carcinoma was prevalent. In 86.95% of cases working-age patients received surgical treatment. In all cases tumors had functionally and socially important localization as follows: maxillo-facial (43.5%) and oropharyngeal (26%). Due to differences regarding to tumor localization, morphological structure and methods of treatment all patients were divided into 3 groups according to type of tumor: group 1 included the patients with primary tumors (47.82%), group 2 – with recurrent tumors (30.44%) and 3 – with maxillo-facial defects without recurrences on the moment of reconstructive and plastic surgery (21.74%).

Results. Using obtained data from study of cytotoxicity and biocompatibility of different materials based on calcium phosphate bioceramics we determined appropriate variants for clinical practice for bone defect closure: hydroxiapatite 60% – tricalcium phosphate 40% (the size of particles 300-600 microns, porosity – 49, pore size – 5-30 microns), and carbonated hydroxiapatite (the size of particles 300-600 microns, porosity – 54, pore size – 1-5 microns).

As a result of radical surgery combined defects of cranio-maxillo-facial region were formed in all patients. Among them defects of calvaria were in 30.5% of patients, orbito-maxillar – 21.7%, mandibular defects – 21.7%. The resection of base skull structures (cranio-orbito- and cranio-facial resections) was performed in 6 (26.1%) cases, of which resection of dura mater with defects that would be fatal without single-step plastic closure in 2 cases. Single-step defect closure with tumor removal was performed in 78.26% of cases, delayed closure due to poor oncological prognosis was in 21.47%.

Conclusion: 20 (86.95%) patients were rehabilitated, 2 patients had ongoing rehabilitation on the moment of the study, 1 patient died from tumor progression on the final stage of rehabilitation. At 30 days post-op 14 (60.86%) patients were completely rehabilitated, 3 (13.04%) patients were rehabilitated in the period from 1 to 3 months.

Positive surgical results were obtained in 20 of 23 cases (86.92%). The most of operated patients lead an active lifestyle,

дефекта. Реконструкция дефектов одномоментно с удалением опухоли была выполнена в 78,3% наблюдений, отсроченная в связи с неблагоприятным онкологическим прогнозом – в 21,5%.

Выводы. В наших наблюдениях реабилитировано 20 (86,9%) пациентов, 2 больных на момент проведения исследования находятся в процессе реабилитации, и 1 пациент погиб от прогрессирования опухолевого процесса на завершающем этапе реабилитационных мероприятий. В течение 30 дней с момента операции были полностью реабилитированы 14 (60,9%) пациентов, 3 (13,0%) – в сроки от 1 до 3 мес.

Положительные результаты пластики достигнуты в 20 из 23 наблюдений, что составило 86,9%. Подавляющее большинство оперированных больных ведут активный образ жизни, не требуют постороннего ухода за собой 100% больных, не скрывают при общении лицо под повязками 15 (88,2%) пациентов.

Таким образом, социально адаптированы 86,9% пациентов, из всей группы пациентов возвратились к труду 69,9% больных.

На основании полученных данных можно заключить, что метод замещения костных дефектов кальций-фосфатными биокерамическими материалами является надежным методом реконструктивной хирургии, позволяющим проводить лечение и социальную реабилитацию онкологических больных с опухолями челюстно-лицевой зоны.

Ключевые слова: кальций-фосфатная биокерамика, гидроксипатит, карбонатзамещенный гидроксипатит, кранио-орбито-фациальные дефекты.

Хирургическое лечение местнораспространенных новообразований челюстно-лицевой области сопряжено с формированием обширных тканевых дефектов, что приводит к глубокой инвалидизации, функциональным нарушениям, и, как следствие, к социальной дезадаптации пациентов. Реконструкция сочетанных дефектов мягких тканей и опорных структур лицевого скелета, после условно радикального удаления злокачественных опухолей является сложной проблемой современной реконструктивно-пластической хирургии. В частности, для замещения костных дефектов, возникающих при обширных хирургических вмешательствах, необходимы соответствующие материалы. С этой целью разрабатывают, испытывают и используют различные как природные, так и искусственные материалы, пригодные для имплантации [13-15].

Изначально для замещения операционных дефектов костных структур челюстно-лицевой зоны предпочтение отдавали биологически инертным, то есть нетоксичным и устойчивым к биохимическим воздействиям организма материалам: коррозионно-стойким металлам (титан и его сплавы, нержавеющая сталь и др.), керамике (корундовая, диоксид-циркониевая) и пластмассам (полиметилметакрилат, высокомолекулярный полиэтилен). Однако биоинертные материалы нашли лишь

100% of patients do not need constant care, 15 (88.23%) patients do not mask their face by dressing when visiting a doctor.

Thus, 86.95% of patients are socially functioning, 69.95% of patients returned to work.

The obtained results showed that defect closure with calcium phosphate bioceramics was a reliable reconstructive method for treatment and social rehabilitation of patients with maxillo-facial tumors.

Key words: calcium phosphate bioceramics, hydroxiapatite, carbonated hydroxiapatite, cranio-orbito-facial defect.

ограниченное применение в реконструктивно-восстановительной хирургии из-за неизбежных реакций отторжения.

Одно из направлений в замещении костных дефектов – использование термически обработанных (для удаления органической составляющей) алло- или ауто трансплантатов. Первые представляют собой «мертвую» костную ткань донора, вторые – костную ткань самого пациента. Применение для имплантации аллотрансплантатов связано с опасностью инфицирования, отрицательных иммунных реакций, неконтролируемой резорбируемостью имплантата. Использование же ауто трансплантатов связано с необходимостью повторных оперативных вмешательств для извлечения участка здоровой кости, что может быть проблематично для здоровья пациента и практически нереально в случае необходимости замещения объемных дефектов. Долгое время существовало мнение, что полной биологической совместимостью обладают только аутогенные ткани. Тем не менее, усилия исследователей были направлены на создание синтетических материалов, которые воспринимались бы организмом почти как аутогенная ткань.

Значительный прогресс достигнут при использовании биологически активных материалов на основе веществ, изначально близких по химическому и фазовому составу к костной ткани, либо способных к образованию таких веществ на своей поверхности в результате биомиметических процессов взаимодействия с окружающими тканями и жидкостями организма. К первой группе биоактивных материалов для костной имплантации относятся некоторые ортофосфаты кальция, структура, технология и свойства которых изучались в течение многих лет [1-12]. Эти материалы являются предметом интенсивных исследований и в настоящее время.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

После получения положительного заключения ФГУ «ВНИИИМТ» Минздравсоцразвития России об отсутствии токсичности испытанных образцов кальций-фосфатных биокерамических материалов и положительного заключения Этического комитета ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России в клинике микрохирургии МНИОИ им. П.А. Герцена были проведены ограниченные клинические испытания по использованию пористой гранулированной кальций-фосфатной керамики для замещения дефектов сложной конфигурации и различного объема при реконструктивно-пластических операциях челюстно-лицевой зоны.

В протокол клинических исследований вошли 23 пациента с опухолевым поражением этой локализации. Эпителиальные опухоли были диагностированы в 52,2%, преобладал плоскоклеточный рак. В 86,95% оперированы больные трудоспособного возраста. Во всех наблюдениях опухоли имели функционально-значимую и социально-важную локализацию: челюстно-лицевую (43,5%) и орофарингеальную (26%). В связи с неоднородностью локализации опухолей, морфологии опухоли и методов проведенного лечения все наблюдения были разделены на 3 основные группы: первая – пациенты с первичными опухолями (47,8%), вторая – с рецидивными опухолями (30,4%) и третья с дефектами челюстно-лицевой зоны без признаков рецидива на момент выполнения реконструктивно-пластической операции (21,7%).

Результаты проведенных ранее экспериментальных исследований цитотоксичности и биосовместимости различных видов материалов на основе кальций-фосфатной биокерамики позволили выделить наиболее подходящие варианты, приемлемые для использования в клинической практике по замещению костных дефектов: ГА60%-ТКФ40% (размер гранул 300–600 мкм, пористость – 49, размер пор – 5–30 мкм) и КГА (размер гранул 300–600 мкм, пористость – 54, размер пор – 1–5 мкм).

В результате выполнения радикальных операций у всех больных были сформированы комбинированные дефекты черепно-челюстно-лицевой зоны. Из них дефекты свода черепа были сформированы у 30,5% больных, орбитомаксиллярные – у 21,7%, дефекты нижней челюсти – у 21,7%. Резекции структур основания черепа (краниоорбито- и краниофациальные резекции) были выполнены у 6 (26,1%), из них в 2 наблюдениях – резекция твердой мозговой оболочки с образованием несовместимого с жизнью без одномоментного пластического закрытия дефекта. Реконструкция дефектов одномоментно с удалением опухоли была выполнена у 78,3%, отсроченная в связи с неблагоприятным онкологическим прогнозом – у 21,5% больных.

ПРИВОДИМ КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Б-ой К., 42 лет. В 1985 г. диагностирована злокачественная опухоль околоушной слюнной железы справа. Неоднократно оперирован в Тульском центре челюстно-лицевой хирургии (1985, 1997, 1998, 2000 и 2001 гг.). В июле 2001 года отметил продолженный рост опухоли. В августе 2001 года обратился для обследования и лечения в МНИОИ им. П.А. Герцена. Выявлена многоузловая опухоль в области подвисочной и крылонебной ямок, парафарингеальной зоны. 04.10.2001 выполнена реоперация на околоушной слюнной железе справа с резекцией мягких тканей лица, нижней челюсти, сосцевидного отростка, пирамиды височной кости и костей средней черепной ямки справа, лимфаденэктомия на шее справа, сеанс интраоперационной лучевой терапии РОД 15 Гр, пластика дефекта перемещенным кожно-мышечным лоскутом из волокон большой грудной мышцы справа. В послеоперационном периоде сформировался дефект мягких тканей лица справа с формированием свищевого хода, сообщающегося с носоглоткой. 21.08.2002 выполнена операция: отсроченная реконструкция нижней челюсти, мягких тканей лица справа свободным кожно-мышечно-реберным лоскутом. 07.05.2003 выполнена операция: остеотомия тела нижней челюсти с наложением компрессионно-дистракционного аппарата на нижнюю челюсть (Рис. 1).



Рис. 1. Внешний вид больного до корректирующей операции: дефицит мягких тканей правой височной области.

Ввиду безрецидивного течения заболевания больному с целью дальнейшей реабилитации 19.01.2004 выполнена операция: коррекция костного фрагмента лоскута и мягких тканей на лице справа, иссечение избытка кожи и подкожно-жировой клетчатки околоушной области, выделен реберный фрагмент трансплантата, расположенный в позиции ветви нижней челюсти справа. Произведена остеотомия ребра на уровне костной мозоли в верхней трети трансплантата. Вторая остеотомия выполнена на уровне реберно-нижнечелюстного сочленения. Произведен остеосинтез ребра и тела нижней челюсти в позиции ее угла с использованием титановой пластины (Рис. 2а). Параллельно произведено формирование свободного лоскута из широкой фасции бедра справа. Фрагменты ребер фиксированы костными швами. Далее сформирован свободный апоневротический лоскут из волокон широкой фасции бедра (Рис. 2б).

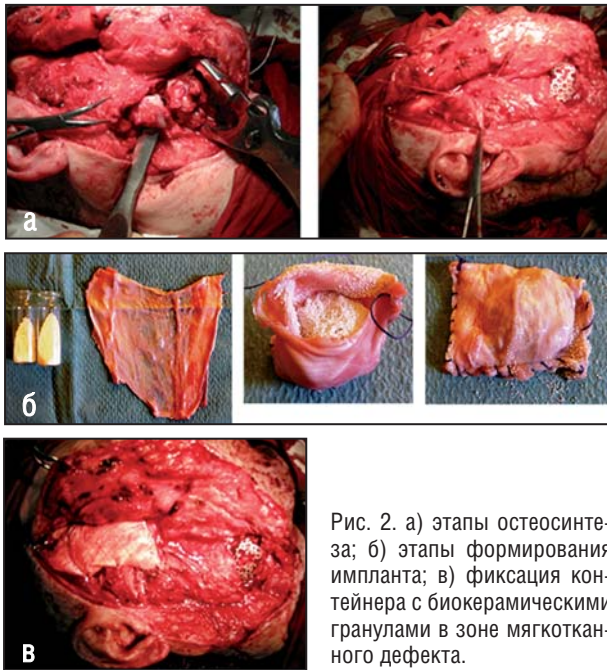


Рис. 2. а) этапы остеосинтеза; б) этапы формирования импланта; в) фиксация контейнера с биокерамическими гранулами в зоне мягкотканого дефекта.

Из сформированного апоневротического лоскута смоделирован контейнер, заполненный гранулами гидроксиапатита, и фиксирован в позиции дефекта мягких тканей правой височной области (Рис. 2б, 2в). Операционная рана на мягких тканях лица и шеи ушиты послойно с дренированием. Донорская рана на правом бедре, дренирована и ушита послойно. Течение послеоперационного периода гладкое. Раны зажили первичным натяжением. Дренажи удалены, швы сняты. Косметический результат удовлетворительный (Рис. 3).



Рис. 3. Внешний вид больного через 6 мес. после операции.

Б-ой П., 45 лет. По поводу образования слизистой полости носа в 2003 году в онкологическом диспансере Липецка выполнена резекция носовой перегородки и удаление «образования» полости носа. При плановом морфологическом исследовании удаленного препарата – высокодифференцированная аденокарцинома, и больной был направлен в МНИОИ им. П.А. Герцена. При обследовании выявлено опухолевое образование в полости носа слева, с переходом на клетки решетчатого лабиринта с двух сторон, преимущественно слева (3,3X4,5 см), и признаками пролабирования в левую верхнечелюстную пазуху с подрастанием к своду носоглотки. Верхняя граница опухоли распространяется на левую лобную пазуху (Рис. 4).

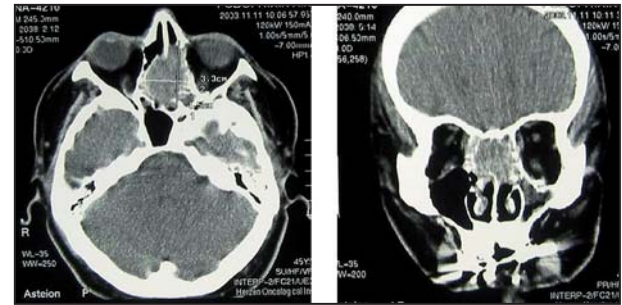


Рис. 4. КТ-картина опухолевого поражения решетчатого лабиринта.

В плане комбинированного лечения больному на первом этапе в декабре 2003 года начат курс предоперационной лучевой терапии СОД 36 Гр. В феврале 2004 года больному выполнена операция в объеме: видеоассистированная краниофациальная резекция, возмещение костного дефекта гранулами гидроксиапатита и пластика перемещенным апоневротическим лоскутом скальпа. Для мобилизации верхнего полюса опухоли использован бифронтальный разрез кожи. Кожный лоскут откинут к основанию. Сформирован надкостничный лоскут на передней сосудистой ножке 15X15 см. Выполнена резекция передней стенки лобной пазухи, резецирована задняя стенка лобной пазухи, пересечены ольфакторные комплексы с двух сторон. В передних отделах решетчатого лабиринта выявлена опухоль белесоватого цвета, плотная, разрушающая медиальную стенку левой глазницы. Произведена резекция костей основания передней черепной ямки, медиальной стенки левой орбиты. При резекции выявлено, что опухоль разрушает также переднюю стенку основной пазухи, распространяясь в ее левую половину. Произведена мобилизация верхнего полюса опухоли. При мобилизации твердая мозговая оболочка (ТМО) травмирована с формированием трех дефектов до 0,5 см каждый с поступлением в рану прозрачного ликвора. Далее произведен разрез, окаймляющий крылья носа, с пересечением хрящевой части носовой перегородки. Трансназально мобилизован нижний полюс опухоли. Произведено удаление опухоли с резекцией носовой перегородки, носовых раковин с обеих сторон, нижних отделов носовых костей и резекцией медиальных стенок верхнечелюстных пазух. Дефекты ТМО ушиты с тампонадой свободным жиром, герметизацией фибрин-тромбиновым клеем – тахокомбом. Пластика основания передней черепной ямки свободным жировым лоскутом и ранее сформированным надкостничным лоскутом с фиксацией тахокомбом, швами. Между листками надкостничного лоскута размещены гранулы ГА-ТКФ. Полость носа тампонируется тампоном с ксероформом и левосином. Рана скальпа послойно ушита и дренирована аспирационными дренажами. Установлен люмбальный дренаж (Рис. 5а, 5б).



Рис. 5. Этапы операции: а) операционный доступ; б) замещение дефекта основания черепа биокерамическими гранулами.

Послеоперационный период протекал без осложнений, тампон из полости носа удален на 5 сутки после операции, назальная ликворея не отмечена, показатели ликвора при неоднократном цитологическом и бактериологическом исследовании в пределах нормы. Люмбальный дренаж удален. Больной активизирован. Питание через рот в полном объеме. Дыхание через верхние дыхательные пути свободное, не затруднено. При плановом морфологическом исследовании: высокодифференцированная аденокарцинома с участками слабо выраженного лучевого патоморфоза. Больной обсужден на консилиуме – проведение дополнительных методов лечения не показано. При динамическом наблюдении в течение 5 лет – безрецидивное течение. Больной социально адаптирован, работает по профессии (Рис. 6).

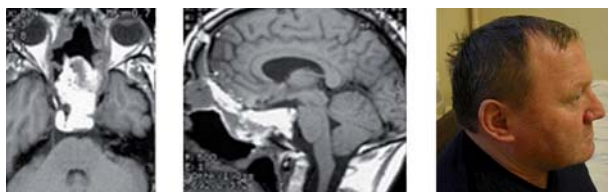


Рис. 6. Внешний вид больного и КТ-картина через 6 мес. после операции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В наших наблюдениях реабилитировано 20 (86,9%) пациентов, 2 больных на момент проведения исследования находятся в процессе реабилитации, и 1 пациент погиб от прогрессирования опухолевого процесса на завершающем этапе реабилитационных мероприятий. В течение 30 дней с момента операции были полностью реабилитированы 14 (60,9%) пациентов, 3 (13,0%) – в сроки от 1 до 3 месяцев.

Положительные результаты пластики достигнуты в 20 из 23 наблюдений, что составило 86,9%. Подавляющее большинство оперированных больных ведёт активный образ жизни, не требуют постороннего ухода за собой 100%, не

скрывают при общении лицо под повязками 15 (88,2%) пациентов.

Таким образом, социально адаптированы 86,9% пациентов, из всей группы пациентов возвратились к труду 69,9% больных.

На основании полученных данных можно заключить, что замещение костных дефектов кальций-фосфатными биокерамическими материалами является надежным методом реконструктивной хирургии, позволяющим проводить лечение и социальную реабилитацию онкологических больных с опухолями челюстно-лицевой зоны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Орловский В.П., Суханова Г.Е., Ежова Ж.А., Родичева Г.В. Гидроксиапатитная биокерамика. ЖВХО 1991; 36(10): 683-690.
2. Третьяков Ю.Д. Развитие неорганической химии как фундаментальной основы создания новых поколений функциональных материалов. Успехи химии 2004; 73: 899-916.
3. Вересом А.Г., Путляев В.И., Третьяков Ю.Д. Достижения в области кальцийфосфатных биоматериалов. Рос. хим. журнал 2000; 44(6): 32-46.
4. Орловский В.П., Баринов С.М. Hydroxyapatite and hydroxyapatite-matrix ceramics: A survey. Rus. J. Inorg. Chem. 2001; 46(suppl. 2): 129-149.
5. Орловский В.П., Комлев В.С., Баринов С.М. Гидроксиапатит и керамика на его основе. Неорган. материалы 2002; 38(10): 973-984.
6. Третьяков Ю.Д., Брылев О.А. Новые поколения неорганических функциональных материалов. Рос. хим. журнал 2000; 44(4): 10-20.
7. Власов А.С., Карабанова Т.А. Керамика и медицина. Стекло и керамика. 1993; 9/10: 23-25.
8. Швед С.И. Кальцийфосфатные материалы в биологических средах. Успехи современной биологии. 1995; 115(1): 58-73.
9. Карлов А.В., Шахов В.П. Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. Томск: СТТ, 2001. 477.
10. Суворова Е.И., Поляк Л.Е., Комаров В.Ф., Мелихов И.В. Исследование синтетического гидроксиапатита методом высокоразрешающей просвечивающей электронной микроскопии: Экспериментальные и теоретические изображения. Кристаллография. 2000; 45(5): 930.
11. Мелихов И.В., Комаров В.Ф., Северин А.В. и др. Двумерно-кристаллический гидроксиапатит. Докл. РАН 2000; 373(3): 355.
12. Кубарев О.Л., Баринов С.М., Фадеева И.В., Комлев В.С. Пористые керамические гранулы на основе гидроксиапатита и трикальций-фосфата для клеточных технологий реконструкции костных тканей. Перспективные материалы. 2005; 2: 34-38.
13. Hench L.L., Wilson J. Surface-active biomaterials. Science 1984; 226: 630-636; PMID: 6093253; DOI:10.1126/science.6093253.
14. Rose F., Oreffo R. Breakthroughs and views bone tissue engineering: hope vs. hype. Biochem. Biophys. Res. 2002; 292: 1-7; DOI: 10.1006/bbrc.2002.6519.
15. Beaman F.D., Bancroft L.W., Peterson J.J., Kransdorf M.J. Bone graft materials and synthetic substitutes. Radiol. Clin. North. Am. 2006; 44: 451-61; PMID: 16644361; DOI: 10.1016/j.rcl.2006.01.001.

НОВЫЙ МЕТОД МИКРОВОЛНОВОЙ АБЛЯЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПЕЧЕНИ

Сидоров Д.В., Гришин Н.А., Ложкин М.В.,
Вишневецкий В.А., Петров Л.О.

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена, Москва, Россия

Контакты: Петров Л.О. E-mail: mnioi-smu@mail.ru

В статье представлен краткий обзор мировой литературы и первый российский опыт клинического применения системы для микроволновой абляции «Evident» производства компании «Valleylab» (США) при выполнении резекции печени и чрескожной деструкции метастатического очага в печени.

Материалы и методы. Система «Evident» применена у двух пациенток с метастазами колоректального рака в печени. У первой больной с солитарным очагом в левой доле печени выполнена бисегментэктомия SII-SIII с применением СВЧ-генератора. У второй пациентки с небольшим метастазом в правой доле печени (SV) произведена чрескожная деструкция образования. Использование прибора для диссекции паренхимы при анатомической резекции печени позволило выполнить данный этап прецизионно, бескровно и относительно быстро. При чрескожной абляции с применением охлаждаемой антенны удалось достичь формирования достаточной по объему зоны воздействия без непосредственных осложнений. В работе изложены технические аспекты микроволновой абляции, детально описана методика выполнения обеих процедур, приведены непосредственные и отдаленные результаты лечения.

Выводы. Приведенные нами наблюдения свидетельствуют о возможности использования микроволнового аблятора Valleylab MV как для выполнения анатомических и атипичных резекций печени, так и для проведения чрескожной абляции метастатических очагов. Динамическое наблюдение за обоими пациентами в течение полутора лет не выявило признаков рецидива заболевания, в том числе в зоне микроволновой абляции, что позволяет говорить о потенциальной онкологической адекватности данной перспективной методики.

Ключевые слова: микроволновая абляция, резекция печени, метастазы колоректального рака.

За последнее десятилетие во многих странах, включая Россию, радиочастотная абляция (РЧА), или радиочастотная интерстициальная термотерапия опухолей паренхиматозных органов завоевала свои позиции в лечении новообразований печени, почек, костей и ряда других органов. Этот метод успешно конкурирует как с уже известными (абляции этанолом, лазерные абляции, криодеструкции), так и с малоизученными (электролиз) техниками, благодаря удобству применения и хорошим результатам лечения, малому количеству осложнений [12]. Его применяют гораздо шире, чем при-

NEW METHOD OF MICROWAVE ABLATION OF MALIGNANT HEPATIC TUMORS

Sidorov D.V., Grishin N.A., Logkin M.V.,
Vishnevskiy V.A., Petrov L.O.

P.A. Herzen Moscow Cancer
Research Institute, Moscow, Russia

Contact: Petrov L.O. E-mail: mnioi-smu@mail.ru

The short literature review and first application of the system for microwave ablation «Evident» by «Valleylab»(USA) for resection of liver and percutaneous destruction of metastatic tumors in Russia are represented in the article.

Materials and methods. The system «Evident» was applied in 2 female patients with metastases of colorectal cancer in liver. For the first case in patient with solitary tumor in the left lobe of liver bisegmentectomy SII-SIII using microwave generator was performed. For the second patient with small metastasis in the right lobe of the liver (SV) percutaneous destruction of the lesion was made. The use of the device for dissection of parenchyma for anatomic resection of liver allowed performing this step of operation precisely, bloodlessly and quickly. For percutaneous ablation with cooled antenna area with enough capacity with no short-term complications was obtained. The article contains engineering aspects of microwave ablation, the technique of 2 operations, short- and long-term outcomes of treatment.

Conclusions. Our case-reports show the possibility for applying of the microwave ablator Valleylab MV both for anatomical and atypical liver resections and for percutaneous ablation of metastases in liver. During the follow-up of 1.5 years in this 2 patients there were no recurrences, particularly in the zone of microwave ablation. Thus, this promising technique may be appropriate in terms of oncological results.

Key words: microwave ablation, hepatic resection, metastasis of colorectal cancer.

влекательный своей неинвазивностью HIFU (сфокусированный ультразвук) из-за сравнительной дешевизны и краткости сеанса – минуты вместо часов [6]. Метод РЧА относится к электрохирургическим процедурам, применяется обычно в монополярном исполнении, реже – в биполярном. В целом, методика основана на замкнутой электрической цепи с двумя электродами, которые распространяют вокруг себя радиочастотный ток. Имеющиеся в клетках опухоли заряженные молекулы (диполи) колеблются в переменном электромагнитном поле. Эти «микродвижения» внутриклеточных структур

разогревают клетку до температур около 100°C. Размеры коагулята в зависимости от времени воздействия и других факторов может достигать нескольких сантиметров, в дальнейшем зона воздействия замещается соединительной тканью [5].

Основное место РЧА – лечение больных, которым нельзя выполнить радикальную операцию. Основные успехи отмечены в лечении одиночных (3-5) очагов в печени. Не менее привлекательна возможность этапного лечения больных. РЧА может применяться интраоперационно при открытом доступе, чрезкожно и/или лапароскопически [2, 3]. Абсолютным большинством отечественных и зарубежных авторов золотым стандартом лечения пациентов с резектабельными метастазами колоректального рака в печени является выполнение анатомических (реже – атипичных) резекций печени [1, 7]. В отношении первичного рака печени в литературе существует также спорное мнение о том, что РЧА может быть применена у ряда пациентов (небольшие очаги на фоне выраженного цирроза) как метод выбора, позволяющий рассчитывать на достижение хороших непосредственных и отдаленных результатов [10]. С другой стороны, в последние годы получило свое развитие использование систем для РЧА с целью бескровных резекций органов, в основном печени и почек, путем «прогрева» линии предстоящей резекции. При этом зачастую удается избежать использования маневра Прингла (временная редукция кровотока для уменьшения кровопотери на этапе разделения паренхимы) [9].

Радиочастотные генераторы, появившиеся в 50-х гг., лишь в начале 90-х гг. XX века начали систематически применять для РЧА опухолей в клинической практике на фоне уже имевшихся методов. В настоящее время история повторяется с новым методом воздействия на опухоли – микроволновой абляцией (МВА). Первые сообщения об использовании МВА появилась в 80-х гг., но лишь несколько лет назад аппараты стали производить серийно. Для клиницистов методы РЧА и МВА внешне сходны, однако «физика» процессов существенно различается [4, 9].

Синонимом микроволновых электромагнитных колебаний является более привычный термин «токи сверхвысокой частоты», или СВЧ-токи. Такой спектр колебаний редко применяется в медицине, но в бытовых приборах распространен (кухонные микроволновые печи, сотовые телефоны). В настоящее время в мире сертифицированы две рабочие частоты для МВА-генераторов: 915 мГц и 2450 мГц. Большая частота дает при этом меньшие по размерам коагуляты [5].

Нам удалось впервые в России применить систему для микроволновой абляции «Evident» производства компании «Valleylab» (США). Наши впечатления о возможностях МВА мы строим на небольшом опыте. Система «Эвидент» работа-

ет на частоте 915 мГц, что почти в две тысячи раз превышает частоту генератора для РЧА абляции Кул-тип (472 кГц) производства той же компании. Нам удобно сравнивать две эти технологии по двум причинам. Во-первых, мы имеем многолетний положительный опыт работы с генератором «Valleylab Cool-tip™ RF System» и можем оценить вероятные преимущества. Во-вторых, строение аппликаторов обеих систем идентично – это игольчатые инструменты. Максимальная мощность генератора «Эвидент» формально составляет 60 Вт, но подключение к нему МВ-антенны ограничивает ее принудительно до 45 Вт (Рис. 1). Подбор мощности производится с шагом 5 Вт. Установки времени с шагом 1 минута, максимум 10 минут. Таймер состоит из двух дисплеев, на правом фиксируется общая длительность воздействия, на левом в процессе работы отражается текущая длительность сеанса. Подбор параметров (время и мощность) занимает минимум времени, но возможен лишь после подключения антенны.

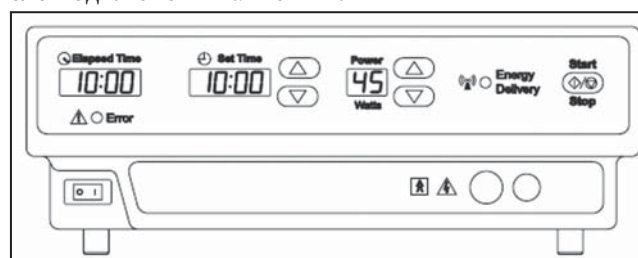


Рис. 1. Передняя панель генератора для микроволновой абляции «Эвидент».

Первое отличие РЧА и МВА – это частота. Собственно, она и формирует все технические и клинические особенности методов. В переменном СВЧ-поле не успевают поворачиваться (колебаться) крупные дипольные молекулы. В то же время на сверхвысокую частоту реагируют небольшие по размеру молекулы воды, которые имеют асимметричное строение и вращаются под воздействием с частотой почти 2 миллиарда раз в секунду. Это также вызывает фрикционный разогрев ткани [11].

Следующие отличия состоят в электрической цепи (контуре). Для РЧА необходима замкнутая цепь. Её размыкание останавливает воздействие. Инструмент МВА – это излучающая антенна игольчатого типа. Здесь не требуется замкнутый контур и рассеивающие нейтральные электроды (Рис. 2).

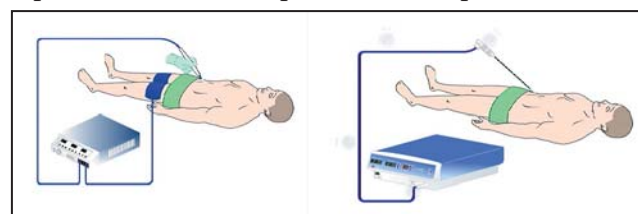


Рис. 2. Разница между традиционными коагуляторами и РЧА-генераторами, с одной стороны (слева), и СВЧ-генераторами, с другой (справа). СВЧ-инструменты излучают микроволновые токи без замкнутого электрического контура.

В отличие от всегда однотипных РЧА-электродов, антенны «Эвидент» разделяются на хирургические и чрескожные. Хирургические антенны применяются при открытом доступе и имеют дополнительную электрическую защиту изолированной части для формирования более округлого коагулята. Чрескожные антенны предназначены для минимально-инвазивной хирургии и, в отличие от хирургических антенн, имеют внутреннее водяное охлаждение, что позволяет избежать термического повреждения мягких тканей передней брюшной стенки при лапароскопических и/или транскутанных абляциях. Рабочая часть антенн изначально создавалась одной длины – 3,7 см, поскольку это расстояние равно половине длины волны СВЧ-поля при частоте 915 МГц. Излучающая часть антенны разделена пополам так называемой питающей точкой (Feeding Point). Из нее продуцируется СВЧ-поле во время работы, это самая горячая точка антенны. В дальнейшем для резекционных целей начали производиться антенны с длиной рабочей части 2,0 см, их излучающая иглообразная часть асимметрична (Рис. 3).



Рис. 3. Хирургическая антенна (слева, электрическая защита черного цвета делает ее более толстой) и чрескожные антенны с внутренним водяным охлаждением трех вариантов длины (трубки вместе с кабелем входят в рукоятки).

Потенциально новый метод имеет целый список преимуществ перед РЧА:

- МВА-абляция создает большую, чем при РЧА, температуру в опухолевом очаге;
- воздействие длится меньше время. Серийный аппарат имеет таймер на 10 минут и максимальную рабочую мощность 45 Вт, что значительно меньше, чем у РЧА-приборов (200–250 Вт);
- западные авторы подчеркивают возможность работать с несколькими аппликаторами [11], но реализуется это в настоящее время лишь покупкой нескольких генераторов, т. к. каждый имеет только один выход;
- лучшее распределение тепла, чем при РЧА. Поэтому потенциально МВА может создать коагулят значительно большего размера. Так, С. J. Simon et al. [8] сообщают о максимальных диаметрах коагулята до 9,0 см, однако аппарат получил ограничения по мощности и времени воздействия;
- МВА-оборудование оптимально для обработки кистозных образований;
- описывают меньшие болевые ощущения во время сеанса, однако пока сложно однозначно оценить данное преимущество;

- отсутствие нейтральных электродов и связанных с ними осложнений (ожогов) [12].

Следует отдельно подчеркнуть, что в отличие от РЧА при применении микроволновой энергии воздействие не зависит от токопроводящих характеристик ткани. Так, при РЧА метастатические очаги, имеющие большую плотность, хуже проводят радиочастотные токи, и в них создается коагулят меньшего объема. Микроволновое изучение, не требуя электрической цепи, позволяет работать с одинаковой эффективностью в тканях любой плотности. Связано это с тем, что СВЧ-воздействие связано с существенно меньшей длиной волны. Частота 915 МГц создает длину волны в ткани печени, равную 7,6 см (при РЧА она составляет около 91 м) [11].

Приводим описание и непосредственные результаты первого в России клинического применения микроволнового аблятора Valleylab MV. В условиях отделения абдоминальной онкологии МНИОИ им. П.А. Герцена нами выполнены два оперативных вмешательства с применением данного аппарата: анатомическая резекция печени и чрескожная микроволновая абляция метастатического очага в печени.

ПРИВОДИМ КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Б-ая К., 60 лет, госпитализирована в МНИОИ им. П.А. Герцена с клиническим диагнозом: рак слепой кишки III ст., T4N1Mo, состояние после комбинированного лечения в 2008 г. Прогрессирование процесса: метастаз в SII-SIII печени. Сопутствующие заболевания: сахарный диабет 2 типа, компенсация; хронический вирусный гепатит С.

Из анамнеза: в 2008 году пациентке по поводу рака слепой кишки III ст. в онкологическом диспансере по месту жительства выполнена правосторонняя гемиколэктомия. В послеоперационном периоде проведено 6 курсов адьювантной ПХТ по схеме Мейо. В июле 2009 года выявлено прогрессирование в виде солитарного метастаза в левой доле печени. Рекомендовано проведение ПХТ, от чего пациентка отказалась, занималась самолечением. В конце января 2010 года больная обратилась для дальнейшего обследования и лечения в МНИОИ им. П.А. Герцена.

УЗИ и СКТ брюшной полости: в левой доле печени на границе SII-SIII визуализирован очаг размерами до 7Х6Х6 см, без признаков вовлечения крупных сосудистых структур. Гистологическое исследование биоптата: «метастаз умеренно-дифференцированной аденокарциномы кишечного типа». Помимо этого, при УЗИ отмечаются умеренно выраженные фиброзные изменения паренхимы печени (на фоне хронического вирусного гепатита С). Билюсцинтиграфия: умеренное снижение экскреторной функции печени.

При комплексном обследовании данных за наличие другой очаговой патологии, в том числе местного рецидива опухоли, не получено. Принимая во внимание солитарный характер поражения, локализацию

метастатического очага и его размеры, пациентке на настоящем этапе лечения решено выполнить анатомическую резекцию печени с дальнейшим проведением системной полихимиотерапии.

Операция: при ревизии брюшной полости данных за перитонеальную диссеминацию, локальный рецидив, другую патологию не выявлено. При интраоперационном УЗИ печени подтверждено наличие солитарного очага, локализующегося на границе SII-SIII, без вовлечения левой печеночной вены и других сосудистых структур. Размеры очага – 72 X 58 X 55 мм. После разметки границ резекции начато поэтапное разделение паренхимы печени с предварительной обработкой тканей с помощью СВЧ-генератора «Evident» при мощности 45 Вт. Хирургическую антенну вводили в ткань печени горизонтально вдоль намеченной линии резекции на всю длину рабочей части (методика М. Миличевича). После экспозиции в течение 10–30 секунд производили рассечение обработанной порции паренхимы скальпелем. При этом отмечали достижение полноценного гемостаза по линии резекции, что не требовало дополнительной коагуляции или прошивания. Последовательно выполнено разделение всей толщи паренхимы левой доли печени. Единственной структурой, потребовавшей лигирования, явилась гилссонова ножка SIII. После завершения мобилизации препарат удален. Объем резекции соответствует бисегментэктомии SII-SIII (Рис. 4). Прием Прингла не применяли. Общая длительность операции – 130 минут. Продолжительность резекционного этапа – 30 минут. Объем кровопотери – 100 мл. Гладкий послеоперационный период. Отмечалась умеренная (до 3 N) элевация уровней аминотрансфераз, полностью нивелированная к 6-м суткам. При контрольном УЗИ в зоне резекции – без признаков свободной и отграниченной жидкости.



Рис. 4. Бисегментэктомия SII-SIII с применением СВЧ-генератора «Evident». (интраоперационная фотография).

При плановом гистологическом исследовании удаленного препарата минимальный клиренс до края резекции составил 21 мм. По линии пересечения паренхимы – зона некробиотических изменений (без выраженного термического некроза тканей) от 3 до 5 мм. В интактной паренхиме – явления минимально активного гепатита (METAVIR 0+2=2, фиброз 2).

Послеоперационная рана зажила первичным натяжением. Швы сняты на 9-е сутки, больная выписана на 10-е с рекомендацией проведения системной полихимиотерапии на основе оксалиплатина и пре-

паратов фторпиримидинового ряда. В послеоперационном периоде проведено 6 курсов полихимиотерапии по схеме XELOX. По данным контрольного обследования через 18 мес. после операции – без признаков прогрессирования процесса. В зоне резекции печени – умеренно выраженные рубцовые изменения.

Б-ая К., 55 лет, госпитализирована в МНИОИ им. П.А. Герцена с клиническим диагнозом: рак сигмовидной кишки II ст., T3N0M0, состояние после хирургического лечения в 2009 г. Прогрессирование процесса, солитарный мтс в SV печени.

Из анамнеза: в июле 2009 года по поводу рака сигмовидной кишки II ст. в условиях МНИОИ выполнена лапароскопически ассистированная резекция сигмовидной кишки. Адювантное лечение не проводили. Пациентка регулярно обследовалась. В январе 2010 года при очередном контрольном обследовании выявлен солитарный метастаз в правой доле печени.

УЗИ брюшной полости: в правой доле печени (SV) – метастатический очаг размерами до 9 X 8 X 8 мм, при СКТ данное образование не визуализируется. Гистологическое исследование биоптата: метастаз аденокарциномы кишечного типа. При комплексном обследовании данных за наличие другой очаговой патологии, в том числе локального рецидива опухоли, не получено. Принимая во внимание анамнез, небольшую продолжительность периода до прогрессирования, солитарный характер поражения, размеры метастатического очага, пациентке на настоящем этапе лечения решено выполнить чрескожную абляцию метастатического очага с дальнейшим проведением системной полихимиотерапии.

Вмешательство выполнено в условиях операционной под внутривенным наркозом (Рис. 5). В поло-

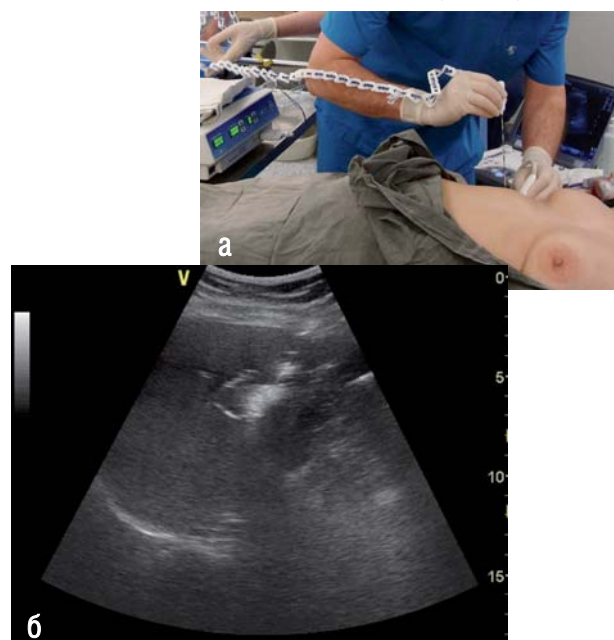


Рис. 5. Общий вид процедуры (а) и сонографическая картина (б) микроволновой абляции солитарного метастаза колоректального рака в печени.

жени пациентки на спине под УЗИ-навигацией в описанный очаг введена антенна для чрезкожной абляции. Feeding-point установлена на уровне центра образования. При постоянном охлаждении антенны проведен сеанс микроволновой абляции СВЧ-аппаратом «Evident» в течение 6 минут, мощность – 45 W. Изменение сонографической картины регистрировали в режиме реального времени. По окончании воздействия размеры обработанной зоны составили 34 X 30 X 28 мм. Антенна извлечена в режиме коагуляции, при этом капиллярное кровотечение из кожного прокола полностью купировано.

Послеоперационный период гладкий. Отмечали умеренную элевацию уровней аминотрансфераз (до 2 N). При контрольном УЗИ на 3-и сутки после вмешательства в паренхиме SV визуализируется зона гиперэхогенности прежних размеров. Признаки жидкостных скоплений в зоне воздействия отсутствуют. Больная в удовлетворительном состоянии выписана на 3-и сутки с рекомендацией проведения системной полихимиотерапии. В послеоперационном периоде проведено 6 курсов полихимиотерапии по схеме FOLFOX. По данным контрольного обследования через 17 мес. после операции – без признаков прогрессирования процесса. В проекции обработанного очага по данным СКТ и УЗИ – зона фиброзных изменений диаметром до 30 мм. При цитологическом исследовании пунктата – фиброз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные наблюдения свидетельствуют о возможности использования микроволнового аблятора Valleylab MV как для выполнения анатомических и атипичных резекций печени, так и для проведения чрезкожной абляции метастатических очагов в печени. Использование прибора для диссекции паренхимы при анатомической резекции печени позволило выполнить данный этап прецизионно, бескровно и относительно быстро. При чрезкожной абляции с применением охлаждаемой антенны удалось достичь формирования достаточной по объему зоны воздействия без непосред-

ственных осложнений. Динамическое наблюдение за пациентами в течение полутора лет не выявило признаков рецидива заболевания, в том числе в зоне микроволновой абляции, что позволяет говорить о потенциальной онкологической адекватности данной перспективной методики.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Патютко Ю.М.* Хирургическое лечение злокачественных опухолей печени. М.: Практическая медицина. 2005.
2. *Петренко К.Н.* и др. Результаты РЧА при лечении колоректальных метастазов в печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2007; 3: 22-28.
3. *Федоров В.Д., Вишнеvский В.А., Кубышкин В.А.* и др. Использование аппарата радиочастотной абляции при резекции печени. Хирургия. 2004; 5: 21-25.
4. *Шеммер П., Фрисс Х., Бюхлер М.В.* Последние разработки в хирургическом лечении первичного и метастатического рака печени. Анналы хирургической гепатологии. 2002; 2: 124-133.
5. *Boutros C., Somasundar P., Garrean S., Saied A., Espat N.J.* Microwave coagulation therapy for hepatic tumors: review of the literature and critical analysis. Surg. Oncol. 2010; 19(1): 22-32.
6. *Fischer K., Gedroyc W., Jolesz F.A.* Focused ultrasound as a local therapy for liver cancer. Cancer. J. 2010; 16(2): 118-124.
7. *Gallagher D.J., Kemeny N.* Metastatic colorectal cancer: from improved survival to potential cure. Oncology. 2010; 78(3-4): 237-248.
8. *Iannitti D.A., Martin R.C., Simon C.J., Hope W.W., Newcomb W.L., McMasters K.M., Dupuy D.* Hepatic tumor ablation with clustered microwave antennae: the US Phase II trial. HPB (Oxford). 2007; 9(2): 120-124.
9. *Kulaylat M.N., Gibbs J.F.* Thermoablation of colorectal liver metastasis. J. Surg. Oncol. 2010; 101(8): 699-705.
10. *Lencioni R.A., Allgaier H.P., Cioni D., Olschewski M., Deibert P., Crocetti L., Frings H., Laubenberger J., Zuber I., Blum H.E., Bartolozzi C.* Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. Radiology. 2003; 228(1): 235-240.
11. *Mayo S.C., Pawlik T.M.* Thermal ablative therapies for secondary hepatic malignancies. Cancer. J. 2010; 16(2): 11-117.
12. *Razafindratsira T., Isambert M., Evrard S.* Complications of intraoperative radiofrequency ablation of liver metastases. HPB (Oxford) 2011; 13(1): 15-23.

**ВНУТРИТКАНЕВАЯ
ЛАЗЕРНАЯ КОАГУЛЯЦИЯ
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Теодорович О.В.¹, Теплов А.А.³, Андреева Ю.Ю.³,
Богославский А.В.¹, Борисенко Г.Г.¹,
Нарышкин С.А.¹, Кочиев Д.Г.²

¹ Российская медицинская академия
последипломного образования

² Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН

³ Московский научно-исследовательский онкологический
институт им. П.А. Герцена, Москва, Россия

Контакты: Теплов А.А. E-mail: a.a.teplov@pochta.ru

Цель работы. Разработка и клиническое исследование методики разрушения злокачественной опухоли предстательной железы у больных раком предстательной железы методом внутритканевой лазерной коагуляции тканей.

Материалы и методы. С 2005 по 2010 гг. выполнены эксперименты по воздействию лазерного излучения при интерстициальной лазерной коагуляции тканей предстательной железы на 8 беспородных собаках. С учетом полученных экспериментальных данных с 2009 по 2010 г. проведена клиническая апробация метода трансуретральной внутритканевой лазерной коагуляции тканей предстательной железы под трансректальным ультразвуковым наведением у 30 больных раком простаты стадии T1c-2N0M0, которым в последующем выполнена позадилольная радикальная простатэктомия. Внутритканевую лазерную коагуляцию выполняли с помощью лазерного хирургического комплекса «Лазурит» («L.T.M.» Ltd., Russia) и ультразвукового аппарата «Hawk» (B&K medical) с трансректальным датчиком. Эффективность воздействия оценивали по результатам планового гистологического исследования удаленной предстательной железы. Мощность воздействия составляла от 24 до 31 Вт, длительность воздействия в одной зоне действия лазера – от 10 до 30 сек.

Результаты. Некроз опухолевой ткани предстательной железы, подтвержденный результатами патоморфологического исследования, был достигнут при мощности лазерного излучения 31 Вт, частоте повторения импульсов 100 Гц, длительности воздействия в одном участке 30 сек. После внутритканевой лазерной коагуляции в ткани предстательной железы формируются определенные зоны изменений, имеющие вид сферы вокруг световода-излучателя: зона коагуляционного некроза, затем зона некроза и некробиоза раковых клеток, среди которых встречаются участки неповрежденных раковых клеток, и периферическая зона кровоизлияний. Из осложнений после лазерного лечения предстательной железы отмечали дизурические расстройства в виде умеренного учащения мочеиспускания, не требующего дополнительного лечения. Дизурические явления самостоятельно регрессировали на 5-6 сутки. В динамике изменений уровня ПСА крови больных локализованным раком предстательной железы после лазерного воздействия можно отметить стойкую тенденцию к снижению показателей у 86,7±6,2% больных. После радикальной простатэктомии уровень ПСА сохранялся в

**ULTRASOUND-GUIDED INTERSTITIAL
LASER COAGULATION OF PROSTATE
IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER**

Teodorovich O.V.¹, Teplov A.A.³, Andreeva Ju.Ju.³,
Bogoslavskii A.V.¹, Borisenko G.G.¹,
Naryshkin S.A.¹, Kochiev D.G.²

¹ Russian Medical Academy of Post-Graduate Education,

² Institute of General Physics of RAS

³ P.A. Herzen Moscow Cancer
Research Institute, Moscow, Russia

Contact: Teplov A.A E-mail: a.a.teplov@pochta.ru

The objective. To suppose and to study the technique for destruction of malignant prostate lesions in patients with prostate cancer using interstitial laser coagulation of tissues.

Materials and methods. From 2005 to 2010 experiments on 8 outbred dogs have been performed to study the impact of laser for interstitial laser coagulation of prostate tissue. Due to obtained experimental data in the period from 2009 to 2010 there was clinical approbation of transperineal interstitial laser coagulation of prostate tissue by ultrasound guidance in 30 patients with prostate cancer stage T1c-2N0M0 followed by retropubic radical prostatectomy. The interstitial laser coagulation was performed on laser surgical device «Lasurit» («L.T.M.» Ltd., Russia) and ultrasound device «Hawk» (B&K medical) with transrectal probe. The effect was evaluated by results of routine histological study of removed prostate. The energy of impact was 24-31 W, duration of impact in one zone – from 10 sec to 30 sec.

Results. The necrosis of tumor tissue, proved by histological study, was for laser energy of 31 W, pulse-repetition frequency of 100 Hz, duration of impact in one zone – 30 sec. Obtained data showed that there were certain regions of changes in the prostate tissue after interstitial laser coagulation with sphere-like shape around the light-guide-emitter: zone of coagulation necrosis, zone of necrosis and necrobiosis of cancer cells, among which intact cancer cells occurred, peripheral zone of hemorrhage. The complications after laser treatment included dysuria as repeated urination did not required additional treatment. Dysuria regressed spontaneously in 5-6 days. For localized prostate cancer there was stable tendency of reducing of PSA blood levels in 86.7±6.2% of patients. After radical prostatectomy levels of PSA remained 0.10 ng/ml in all patients. There was no progression of disease. The median follow-up was 18 months.

Field of application. The developed method of interstitial laser coagulation consisted with zonal distribution of changes, controllability of size of these zones of tissue destruction may be applied as a part of local minimally invasive cancer treatment in multimodality therapy of patients with prostate cancer.

Conclusion. We obtained a unite volume of prostate tissue exposed to necrosis with subsequent lysis after one course of Nd:YAG laser with set-up parameters for modeling of operation guided by transrectal ultrasound for tumor destruction.

Key words: Nd:YAG laser, surgical device «Lasurit», interstitial laser coagulation, localized prostate cancer.

пределах 0,10 нг/мл у всех больных. Данных за прогрессирование опухолевого процесса не выявлено. Медиана наблюдения составила 18 мес.

Область применения результатов. Разработанный метод внутриканальной лазерной коагуляции с учетом зональности изменений после воздействия, контролируемости размеров зон поврежденной ткани предстательной железы может быть использован как компонент местного малоинвазивного противоопухолевого воздействия в комплексном лечении больных раком предстательной железы.

Выводы. Получена единица объема ткани предстательной железы, подвергающаяся некрозу с последующим лизисом, в результате воздействия одной серии импульсным Nd:YAG лазером с заданными параметрами, что позволяет моделировать проведение операции под ТРУЗИ-контролем с целью разрушения опухоли.

Ключевые слова: Nd:YAG лазер, хирургический комплекс «Лазурит», внутриканальная лазерная коагуляция, локализованный рак предстательной железы.

ВВЕДЕНИЕ

В основе действия лазерного излучения повреждающей мощности на биологические ткани лежит поглощение соответствующими молекулами клеток фотонов лазерного излучения [16].

При внутриканальной лазерной коагуляции (ВЛК) предстательной железы происходит непосредственное воздействие введенного в ткань железы световода с диффузным аппликатором на конце. При этом энергия лазера доставляется на достаточную глубину ткани, что позволяет достичь коагуляции ткани в объеме 4–6 см³. Постепенно снижающаяся мощность и рассеивающие свойства диффузора на конце проводника препятствуют карбонизации тканей. При этом лазерный луч вызывает коагуляционный некроз с последующей атрофией в глубине ткани, не приводя к отторжению поверхностно расположенного уротелия [17].

Впервые ВЛК предстательной железы при доброкачественной гиперплазии предстательной железы была выполнена Hofstetter в 1991 году. Автор описал возможности использования неодимового (Nd:YAG), гольмиевого (Ho:YAG) и диодного лазеров [12, 13]. В 1994 году в лаборатории исследования лазерной плазмы Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН совместно с кафедрой урологии РМАПО начались первые работы по созданию отечественного медицинского Nd:YAG-лазера. Результатом этой работы в 2001 году стал первый опытный образец лазерного хирургического комплекса «Лазурит», апробированный при лечении доброкачественных образований в урологии и мочекаменной болезни. На основании широкого внедрения лазерного излучения в клиническую практику проведены экспериментально-клинические исследования в онкоурологии у больных злокачественными опухолями предстательной железы [1].

Применение физических факторов воздействия, прежде всего, высокоэнергетического лазерного излучения в лечении рака предстательной железы в настоящее время является новаторским и малоизученным.

Предложена и клинически исследована методика разрушения злокачественной опухоли предстательной железы у больных раком предстательной железы методом ВЛК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2005 по 2010 г. эксперименты по воздействию лазерного излучения при интерстициальной лазерной коагуляции тканей предстательной железы выполнены на 8 беспородных собаках, у которых *in vivo* изучали воздействие излучения на ткань предстательной железы. После воздействия на 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки образцы ткани, подвергшейся воздействию, забирали для проведения морфометрического анализа и гистологического исследования. Во всех образцах был получен некроз ткани предстательной железы, на месте которого со временем формировалась полость от 0,5 до 1 см в диаметре.

С учетом полученных экспериментальных данных с 2009 по 2010 гг. проведена клиническая апробация метода трансперинеальной ВЛК тканей предстательной железы под трансректальным ультразвуковым наведением у 30 больных раком простаты стадии T1c-2N0M0, которым в последующем выполняли позадилодную радикальную простатэктомию. Предварительно у всех пациентов диагноз был верифицирован методом трансректальной мультифокальной биопсии (12–16-точечковая биопсия).

Основной целью работы являлось определение оптимальных режимов воздействия излучения твердотельного Nd:YAG лазера в импульсно-периодическом режиме (длина волны 1064 мкм) на ткань предстательной железы и прогнозирование объемов коагулированной ткани при воздействии на опухоль. Подбор режимов ВЛК основывался на результатах экспериментального исследования и данных планового послеоперационного (после позадилодной радикальной простатэктомии) гистоморфологического изучения повреждений, вызываемых лазерным излучением в опухолевой и нормальной тканях предстательной железы.

ВЛК выполняли с помощью лазерного хирургического комплекса «Лазурит» («L.T.M.» Ltd., Russia) (Рис. 1) и ультразвукового аппарата «Hawk» (B&K medical) с трансректальным датчиком.

До начала лечения больному проводили полный комплекс диагностики, включающий исследование крови на опухолевый маркер ПСА, ТРУЗИ предстательной железы и мочевого пузыря, зон регионарного метастазирования, УЗИ брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, сканирование костей, многоточковую трансректальную биопсию предстательной железы с



Рис. 1. Лазерный хирургический комплекс «Лазурит».

составлением топографической картины зоны забора материала из ткани предстательной железы и процентного соотношения патологических изменений, выявленных в данной зоне при морфологическом исследовании материала. На консилиуме с участием онкоуролога, врача-радиолога и анестезиолога вырабатывали план лечения больного. В исследование отбирали больных II стадии T1c-2N0M0 рака предстательной железы, которым планировалось проведение позадилоной радикальной простатэктомии.

Методика ВЛК заключалась в следующем. Под трансректальным ультразвуковым наведением с учетом данных предварительно составленной топограммы предстательной железы по результатам первичной многоточковой биопсии выполняли пункционную иглой 18G 20 см трансперинеальную пункцию участков предстательной железы, где, по данным предварительной биопсии, был выявлен рак предстательной железы (Рис. 2).

После извлечения мандрена по игле проводили волоконный кварцевый катетер 600 μm с прямым выводом излучения (Рис. 3). Затем канюлю иглы подтягивали на 5 мм для освобождения рабочей поверхности волокна в ткани железы.

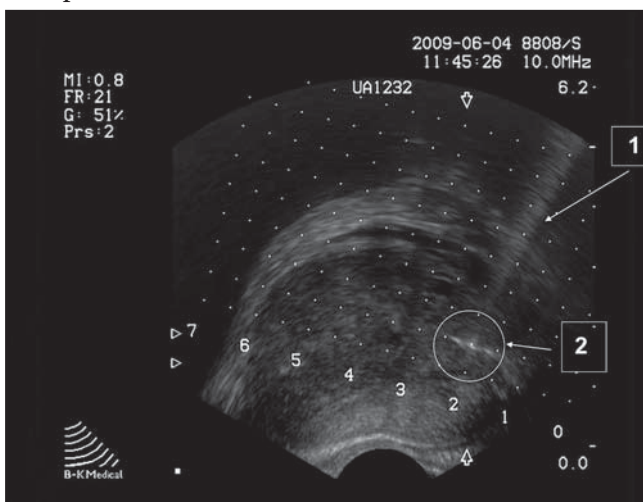


Рис. 2. Проведение пункционной иглы в ткань предстательной железы трансперинеально под ТРУЗИ контролем: 1 – УЗ-трасса иглы в ткани предстательной железы; 2 – очаг патологических изменений в ткани предстательной железы.

Подбор параметров лазерного воздействия проводили с учетом результатов экспериментальных исследований. Эффективность оценивали по результатам планового гистологического исследования удаленной предстательной железы. Мощность воздействия составляла от 24 до 31 Вт, длительность воздействия в одной зоне действия лазера – от 10 до 30 сек.



Рис. 3. Волоконный кварцевый катетер.

В зоне воздействия лазерного излучения при ТРУЗИ-контроле в процессе проведения ВЛК наблюдали изменение эхогенности ткани предстательной железы с образованием более гиперэхогенных участков по сравнению с исходным уровнем (Рис. 4, 5). Контролировали интактность капсулы предстательной железы и уретры.

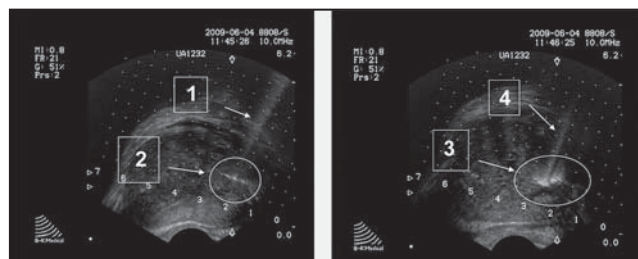


Рис. 4. УЗ-картина динамики изменений в структуре предстательной железы в момент выполнения ВЛК: 1 – УЗ трасса иглы; 2 – очаг патологических изменений предстательной железы; 3 – изменение эхогенности ткани предстательной железы при ВЛК; 4 – УЗ трасса иглы и световода.

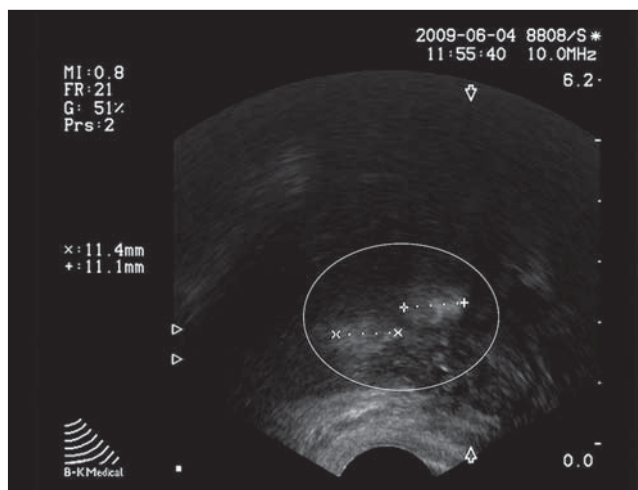


Рис. 5. УЗ-картина предстательной железы: два гиперэхогенных участка ткани предстательной железы после ВЛК

В первой группе больных (17 пациентов) ВЛК выполняли одной серией импульсов на один пункционный доступ; во второй группе (13 пациентов) вторую серию импульсов выполняли после подтягивания канюли пункционной иглы и световода в дистальном направлении на 5 мм.

С целью изучения динамики изменений в ткани предстательной железы и опухолевой ткани простатэктомии выполняли на 6-е, 15-е и 35-е сутки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Некроз опухолевой ткани предстательной железы, подтвержденный результатами патоморфологического исследования, был достигнут при мощности лазерного излучения 31 Вт, частоте повторения импульсов 100 Гц, длительности воздействия в одном участке 30 сек (Рис. 6–8).

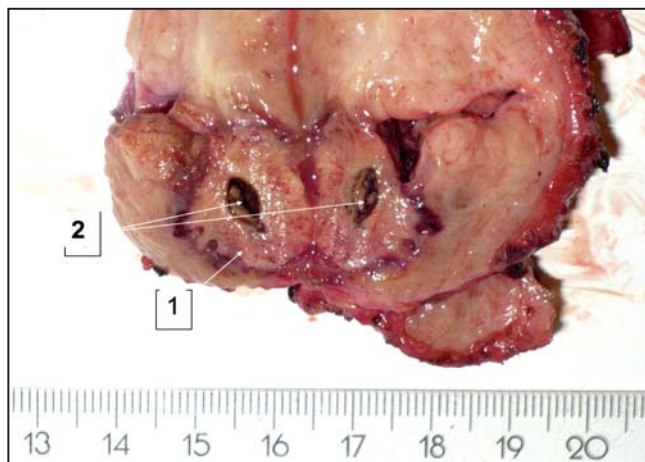


Рис. 6. Препарат предстательной железы: 1 – опухолевый узел предстательной железы; 2 – полость в зоне некроза опухоли через 35 суток после ВЛК.

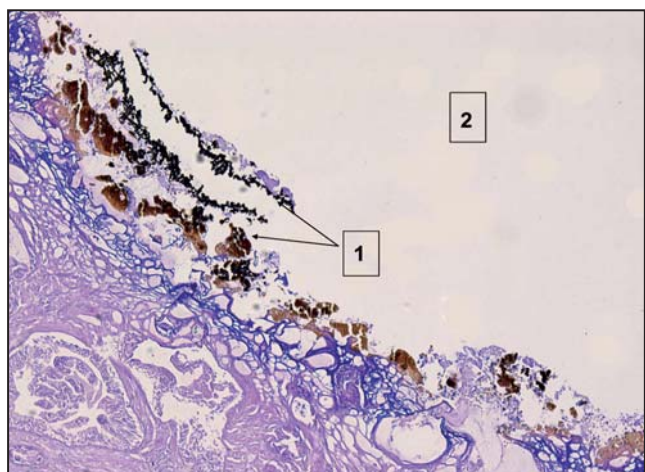


Рис. 7. Микроскопическая картина ткани предстательной железы в зоне воздействия ВЛК (окраска гематоксилин-эозин, увеличение X100): 1 – зона некроза; 2 – полость в центре зоны повреждения.

При указанных выше параметрах гистологические изменения через 15 суток после воздействия выглядели следующим образом: макроскопически определяли округлый серо-коричневый участок размером от 15 до 18 мм со щелевидной

полостью в центре до 5 мм, микроскопически в зоне полости – коагуляционный некроз с обугливанием краев полости; затем – мозаично расположенная зона некроза и некробиоза раковых клеток, среди которых встречались участки неповрежденных раковых клеток. Размеры данной зоны составляли от 1 до 3 мм. Следом располагалась зона кровоизлияний шириной до 5 мм.

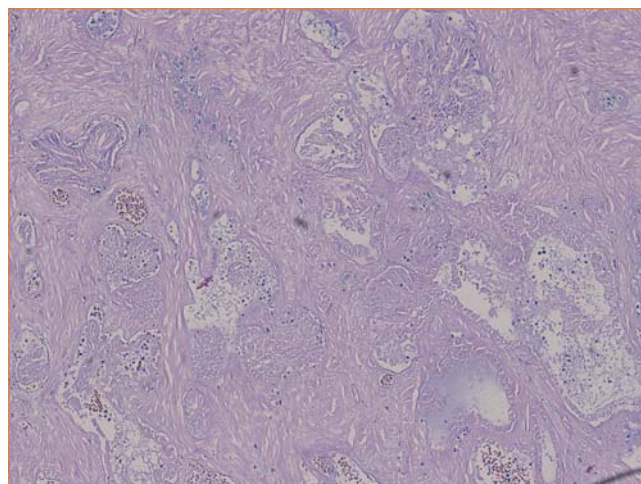


Рис. 8. Микропрепарат ткани предстательной железы в зоне ВЛК (окраска гематоксилин-эозин, увеличение x100): зона некроза и некробиоза.

При увеличении срока наблюдения после проведенной ВЛК до 27 суток отмечали аналогичные изменения, однако определяли увеличение размеров полости в центре воздействия до 8 мм и зоны некроза и некробиоза до 4 мм, при этом сохранялась мозаичность поражения. Зона кровоизлияния уменьшилась до 5 мм. На 35 сутки выявлено увеличение зоны некроза и некробиоза до 5,5 мм с сохранением мозаичности и дальнейшее уменьшение зоны кровоизлияний до 3 мм. Гистологические исследования в ткани предстательной железы на сроках 1 и 6 суток после ВЛК не выявили некроза раковых клеток, что было связано с недостаточной мощностью подведенной дозы лазерного излучения на этапах подбора режима лазерного воздействия. С учетом результатов проведенного исследования можно отметить формирование определенных зон изменений в ткани предстательной железы после ВЛК, имеющих вид сферы вокруг световода-излучателя (Рис. 9, Табл. 1).

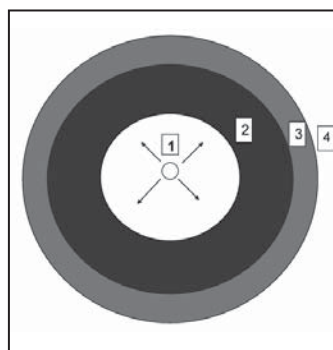


Рис. 9. Схема распределения зон изменений в ткани предстательной железы под воздействием лазерного излучения: 1 – центральная зона (полость); 2 – зона неравномерного (мозаичного) некроза и некробиоза ткани простаты с наличием остаточных неповрежденных структур аденокарциномы; 3 – зона кровоизлияния; 4 – зона неизменной ткани предстательной железы.

Зональность изменений в ткани предстательной железы после ВЛК		
Зоны изменений ткани предстательной железы	Минимальные размеры зоны, мм	Максимальные размеры зоны, мм
1 зона (центральная зона: полость)	5,0±0,1	8,0±0,2
2 зона (зона мозаичных некрозов)	1±0,05	5,5±0,1
3 зона (зона кровоизлияний)	1,5±0,1	3±0,3

При выполнении процедуры ВЛК в отдельных наблюдениях проводили воздействие лазером со сменой положения световода. В таких случаях отмечали формирование «сигарообразной» полости в паренхиме предстательной железы (Рис. 10).

Из осложнений после ВЛК предстательной железы отмечали дизурические расстройства в виде умеренного учащения мочеиспускания, не требую-

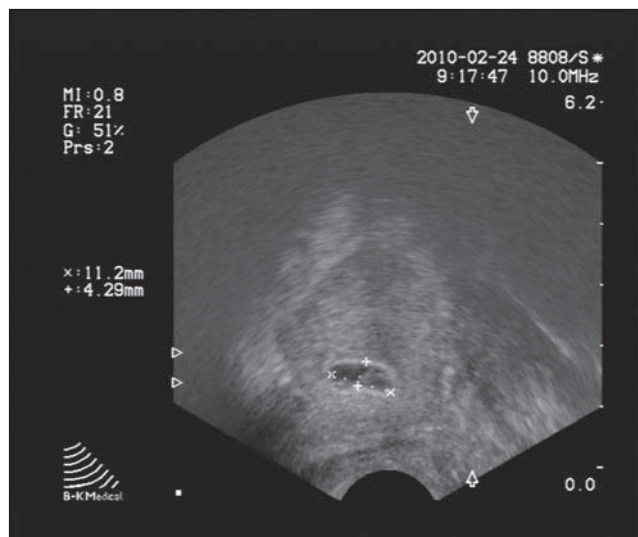


Рис. 10. Ультразвуковое исследование предстательной железы: полость в зоне лазерного воздействия.

Характер динамики уровня ПСА крови больных раком предстательной железы на фоне ВЛК и последующей простатэктомии						
Параметры лазерного воздействия	Стартовый ПСА (до ВЛК) нг/мл	Уровень ПСА				
		После ВЛК (нг/мл)		После радикальной простатэктомии (нг/мл)		
		15 суток	Более 15 суток	3 мес	6 мес	12 мес
Мощность 31 Вт Длительность 30 сек Суммарная доза 925 Дж	22,26	20,3	13,8	0,0	0,1	0,1
	17,4	4,8	4,0	0,0	0,0	0,0
	24,01	17,0	13,9	0,0	0,01	0,02
	6,8	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0
	36,9	21,0	22,7	0,0	0,1	0,1
	5,04	5,3	8,5	0,0	0,0	0,0
	7,09	5,3	0,4	0,0	0,01	0,01
	4,7	3,1	1,5	0,0	0,0	0,0

щего дополнительного лечения. Дизурические явления самостоятельно регрессировали на 5-6 сутки.

Оценивая в динамике изменения уровня ПСА крови больных локализованным раком предстательной железы после ВЛК, можно отметить стойкую тенденцию к снижению показателей у 86,7±6,2% больных. После радикальной простатэктомии уровень ПСА сохранялся в пределах 0,0 нг/мл у всех больных. Медиана наблюдения составила 18 мес. (Табл. 2).

Выводы

Получена единица объема ткани предстательной железы, подвергающаяся некрозу с последующим лизисом, в результате воздействия одной серии импульсным Nd:YAG лазером с заданными параметрами, что позволяет моделировать проведение операции под ТРУЗИ-контролем с целью разрушения опухоли.

Разработанный метод ВЛК с учетом зональности изменений после воздействия, контролируемости размеров этих зон повреждений ткани предстательной железы может быть использован как компонент местного малоинвазивного противоопухолевого воздействия в комплексном лече-

нии больных раком предстательной железы. Возможность применения ВЛК у больных локализованным раком предстательной железы нуждается в дальнейшем изучении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Теодорович О.В., Забродина Н.Б., Кочиев Д.Г. Лазерные технологии в урологии. М.: РМАПО. 2006; 4: 54.
2. Ahmed H.U., Pendse D., Illing R. et al. Will focal therapy become a standard of care for men with localized prostate cancer? Nat. Clin. Pract. Oncol. 2007; 4: 632-642.
3. Ahmed H.U., Emberton M. Active surveillance and radical therapy in prostate cancer: Can focal therapy offer the middle way? World. J. Urol. 2008; 26: 457-467.
4. Ahmed H.U., Moore C., Emberton M. Minimally-invasive technologies in uro-oncology: The role of cryotherapy, HIFU and photodynamic therapy in whole gland and focal therapy of localized prostate cancer. Surg. Oncol. 2009; 18: 219-232.
5. Ahmed H.U., Kirkham A., Arya M., et al. Is it time to consider a role for MRI before prostate biopsy. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2009; 6: 197-206.
6. Cooperberg M.R., Broering J.M., Kantoff P.W., Carroll P.R. Contemporary trends in low risk prostate cancer: Risk assessment and treatment. J. Urol. 2007; 178: 14-19.
7. Crawford E.D., Wilson S.S., Torkko K.C., et al. Clinical staging of prostate cancer: A computer-simulated study of transperineal prostate biopsy. B. J. U. Int. 2005; 96: 999-1004.

8. **Crawford E.D., Barqawi A.** Targeted focal therapy: A minimally invasive ablation technique for early prostate cancer. *Oncology* (Williston Park). 2007; 21: 27-34.
9. **De la Rosette J.J., Mouraviev V., Polascik T.J.** Focal targeted therapy will be a future treatment modality for early stage prostate cancer. *Eur. Urol.* 2009; 8(suppl): 424.
10. **De la Rosette J.J., Wink M.H., Mamoulakis C.** et al. Optimizing prostate cancer detection: 8 versus 12-core biopsy protocol. *J. Urol.* 2009; 182: 1329-1336.
11. **Eggerer S.E., Scardino P.T., Carroll P.R.**, et al. International task force on prostate cancer and the focal lesion paradigm. Focal therapy for localized prostate cancer: A critical appraisal of rationale and modalities. *J. Urol.* 2007; 178: 2260-2267.
12. **Hofstetter A.G.**, et al. Treatment of prostatic tumors with interstitial thermocoagulation with neodymium-YAG laser (a new treatment in minimally invasive surgery). *Arch. Esp. Urol.* 1993; 46(6): 317-319.
13. **Hofstetter A.G.** *Laser in urological surgery.* Berlin: Springer, 1997.
14. **Lindner U., Weersink R.A., Haider M.A.** et al. Image guided photothermal focal therapy for localized prostate cancer: Phase I trial. *J. Urol.* 2009; 182: 1371-1377.
15. **Lindner U., Lauretschuk N., Trachtenberg J.** Focal laser ablation for localized prostate cancer. *J. Endourol.* 2010; 24(5): 791-797.
16. **Malek R.S., Barrett D.M.** High power potassium-titanyl-phosphate laser vaporization prostatectomy. *J. Urol.* 2000; 163: 1730-1733.
17. **Martenson A.C.** et al. Interstitial laser coagulation of the prostate. An experimental study. *Br. J. Urol.* 1999; 71(4): 439-444.
18. **Mouraviev V., Mayes J.M., Polascik T.J.** Pathologic basis of focal therapy for early-stage prostate cancer. *Nat. Rev. Urol.* 2009; 6: 205-215.
19. **Onik G., Vaughan D., Lotenfoe R.** et al. The «male lumpectomy»: Focal therapy for prostate cancer using cryoablation results in 48 patients with a least 2-year follow-up. *Urol. Oncol.* 2008; 26: 500-505.
20. **Onik G., Barzell W.** Transperineal 3D mapping biopsy of the prostate: An essential tool in selecting patients for focal prostate cancer therapy. *Urol. Oncol.* 2008; 26: 506-510.
21. **Onik G., Miessau M., Bostwick D.G.** Three-dimensional prostate mapping biopsy has a potentially significant impact on prostate cancer management. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 4321-4326.
22. **Polascik T.J., Mayes J.M., Sun L.**, et al. Pathologic stage T2a and T2b prostate cancer in the recent prostate-specific antigen era: Implications for unilateral ablative therapy. *Prostate.* 2008; 68: 1380-1386.
23. **Polascik T.J., Mouraviev V.** Focal therapy for prostate cancer. *Curr. Opin. Urol.* 2008; 18: 269-274.
24. **Polascik T.J., Mayes J.M., Schroeck F.R.**, et al. Patient selection for hemiablatable focal therapy of prostate cancer: Variables predictive of tumor unilaterality based upon radical prostatectomy. *Cancer.* 2009; 115: 2104-2110.
25. **Rouvie're O., Girouin N., Glas L.**, et al. Prostate cancer transrectal HIFU ablation: Detection of local recurrences using T2-weighted and dynamic contrast-enhanced MRI. *Eur. Radiol.* 2009; Aug 19. E-pub ahead of print.
26. **Scardino P.T.** Focal therapy for prostate cancer. *Nat. Rev. Urol.* 2009; 6: 175.
27. **Schroder F.H., Hugosson J., Roobol M.J.**, et al. ERSPC Investigators. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1320-1328.
28. **Tareen B., Godoy G., Sankin A.**, et al. Laterality alone should not drive selection of candidates for hemi-ablative focal therapy. *J. Urol.* 2009; 181: 1082-1090.
29. **Tareen B., Godoy G., Sankin A.** Can contemporary transrectal prostate biopsy accurately select candidates for hemi-ablative focal therapy of prostate cancer? *B.J.U. Int.* 2009; 104: 195-199.
30. **Turkbey B., Pinto P.A., Choyke P.L.** Imaging techniques for prostate cancer: Implications for focal therapy. *Nat. Rev. Urol.* 2009; 6: 191-203.
31. **Wink M., Frauscher F., Cosgrove D.**, et al. Contrast-enhanced ultrasound and prostate cancer; a multicentre European research coordination project. *Eur. Urol.* 2008; 54: 982-992.

ник представляет собой универсальный орган в реконструкции сложных ран.

Малая грудная мышца, тампонируя подключично-подмышечную область, замещает «пустое» пространство после лимфаденэктомии, снижая длительность и объем послеоперационной лимфореи.

Применение аутологичных тканей и их комбинации способствует улучшению качества жизни больных, оперированных по поводу местнораспространенного рака молочной железы, сокращению сроков госпитализации и финансово-экономических затрат на лечение.

Ключевые слова: рак молочной железы, реконструкция дефектов грудной стенки, аутологичный пластический материал, профилактика лимфореи.

Рак молочной железы занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости в нашей стране и за рубежом, имея постоянную тенденцию к росту. Однако показатели смертности в ряде стран имеют тенденцию к стабилизации и даже снижению. Этот факт свидетельствует об улучшении качества диагностики, при котором все большее число выявленных больных имеют так называемые ранние стадии, а также об улучшении качества врачебной помощи [1]. Тем не менее, онкологическая служба нередко сталкивается с местнораспространенными формами рака молочной железы.

Значительная местная распространенность опухолевого процесса, особенно в сочетании с неэффективностью проводимых консервативных лечебных мероприятий, при попытке хирургического лечения неминуемо приводит к обширным послеоперационным дефектам. Устранить подобные дефекты местными тканями не всегда представляется возможным. В целом, анализ специальной литературы показал, что существует множество методов реконструкции передней грудной стенки с использованием аутологичного пластического материала [2–5]. Одним из наиболее перспективных материалов для реконструкции обширных дефектов является сальник.

Функция сальника в течение долгого времени оставалась предметом споров ученых. Тщательные исследования последних лет показали, что при патологических состояниях сальник приобретает совершенно особые свойства: пластичность; способность к сращению с травмированной и воспаленной поверхностью; способность к гемостазу; способность к вращению и реваскуляризации; свойство абсорбировать жидкость и микрочастицы; способность к фагоцитозу и иммунологическому реагированию. Все эти основные свойства сальника определяют его использование в пластической и реконструктивной хирургии [6].

В результате подключично-подмышечно-подлопаточной лимфаденэктомии, вне зависимости от вида операции на молочной железе, частыми осложнениями является длительная лимфорея, а также

развитие вторичного лимфатического отека руки. Предложено большое количество средств и методов, направленных на уменьшение и лечение уже существующей лимфореи после различных операций, однако многие из них недостаточно результативны и используются уже в послеоперационном периоде. Среди методов интраоперационной профилактики также применяются аутологичные ткани, в частности, большой сальник, малая грудная мышца.

Приводим клиническое наблюдение использования данных видов аутологичного пластического материала у одной пациентки с целью закрытия обширного послеоперационного дефекта и профилактики длительной лимфореи.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Б-ая С., 71 г., поступила с жалобами на наличие опухолевого образования правой молочной железы. Считает себя больной с ноября 2009 г. когда самостоятельно обнаружила опухоль в правой молочной железе размерами до 3 см в диаметре. Со слов больной образование быстро увеличивалось в размере. В ноябре 2010 г. при обследовании был диагностирован рак правой молочной железы T4N2M0. Гистология №12793/10: аденокарцинома. На первом этапе комбинированного лечения в декабре 2010 г. проведен один курс неoadьювантной ПХТ по схеме абитаксел 230 мг + доксорубин 80 мг. В связи с выраженной токсической реакцией лечение было прекращено. При поступлении: состояние относительно удовлетворительное. Жалобы: отек и покраснение правой молочной железы, общая слабость. При осмотре: молочные железы большого размера, асимметричны, правая больше левой за счет отека, гиперемирована, плотная при пальпации, симптом «лимонной корки» положительный. На коже правой молочной железы в проекции верхне-наружного квадранта, ближе к подмышечной области, экзофитное образование бурого цвета до 5 см в диаметре. В подмышечной области справа пальпируется конгломерат увеличенных лимфоузлов до 3 см в диаметре. Левая молочная железа без узловых образований, регионарные лимфоузлы не определяются. При комплексном обследовании данных за генерализацию опухолевого процесса не получено (Рис. 1).

16.12.2010 г. выполнена операция: радикальная мастэктомия по Холстеду справа с пластикой дефекта грудной стенки большим сальником. При ревизии: опухоль занимала наружные и центральный квадранты правой молочной железы, врастала в большую грудную мышцу; конгломерат подмышечных лимфатических узлов. Выявлены метастатически измененные лимфатические узлы в подключичной области, спаянные с подключичной веной на протяжении 1 см (Рис. 2). В едином блоке удалена молочная железа с кожей, большой и малой грудными мышцами, подключично-подмышечно-подлопаточной клетчаткой с резекцией подключичной вены на протяжении



Рис. 1. Вид больной до операции: предоперационная разметка.

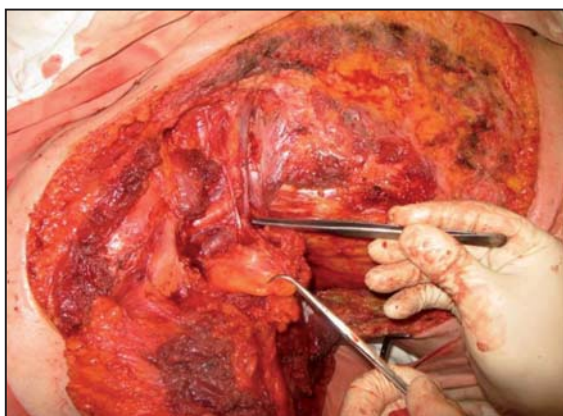


Рис. 2. Этап операции: метастатически измененные подключичные лимфатические узлы спаяны с подключичной веной.

1,5 см. Дефект подключичной вены ушит непрерывно (Рис. 3, 4, 5).

Вторым этапом сформирован аутотрансплантат из большого сальника на правых желудочно-сальниковых сосудах. Сальниковый лоскут перемещен в область послеоперационного дефекта передней грудной стенки с укрытием подключичных и подмышечных сосудов справа. Фиксация сальника осуществлена латексным тканевым клеем, а также отдельными узловыми швами. Произведена аутодермопластика области перемещенного сальникового трансплантата (Рис. 6).

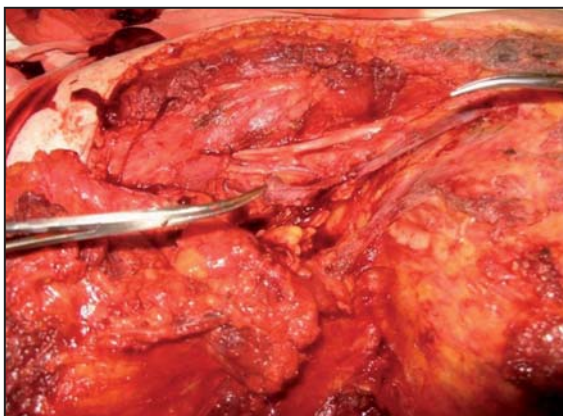


Рис. 3. Этап операции. Показан непрерывно ушитый дефект подключичной вены.



Рис. 4. Удаленный препарат

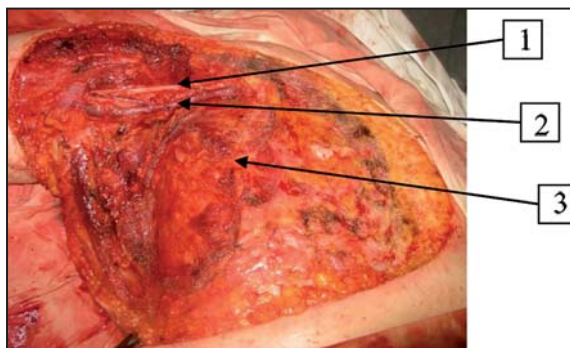


Рис. 5. Дефект грудной стенки. Стрелками указаны: 1 – ключица; 2 – подключичная вена; 3 – ребро.



Рис. 6. Вид после операции.

Послеоперационный период протекал без осложнений. На тринадцатые сутки после операции пациентка выписана из стационара в удовлетворительном состоянии.

При плановом гистологическом исследовании №Т 89455-77/оп: инфильтративный протоковый рак солидного строения с обширными очагами некроза, врастанием в кожу, сосок, мышцу, 3-ей степени злокачественности, множественными (более 10) метастазами в подмышечные лимфатические узлы с очагами некроза, опухолевой эмболией сосудов капсулы, инфильтрацией окружающей жировой клетчатки. ИГХ: РЭ – 0 баллов, РП – 0 баллов, HER2/neu – 2+. Проведено FISH исследование, ам-

плификация обнаружена. Признаков лимфореи в послеоперационном периоде не отмечено. Полное заживление раны – через 4 месяца после операции. С января по март 2011 г. пациентке проведено 3 курса адьювантной ПХТ по схеме FAC.

При обследовании в марте 2011 г. выявлены метастазы рака правой молочной железы в подмышечные лимфоузлы слева. При комплексном обследовании генерализации процесса и другой опухолевой патологии не выявлено.

21.04.2011 выполнена операция: подключично-подмышечно-подлопаточная лимфаденэктомия слева с пластикой подключично-подмышечно-подлопаточной области перемещенным мышечным трансплантатом из малой грудной мышцы. Послеоперационный период протекал без осложнений. Рана зажила первичным натяжением. Лимфорея прекращена на седьмые сутки послеоперационного периода. Пациентка в удовлетворительном состоянии выписана из стационара. При плановом гистологическом исследовании №27291-302/11: в подмышечной клетчатке опухолевое образование диаметром 2 см – метастаз протокового рака, представленный солидным компонентом (grade 3). В шести других исследованных лимфатических узлах метастазов рака нет.

При обследовании через 3 месяца после операции данных за генерализацию процесса не получено. Вторичный лимфатический отек верхних конечностей не отмечен (Рис. 7).



Рис. 7. Вид больной через 3 месяца после лечения.

В связи с современными возможностями реконструктивно-пластической хирургии значительная местная распространенность опухолевого процесса с вовлечением магистральных сосудов не является противопоказанием к хирургическому лече-

нию. При неэффективности консервативного лечения необходима активная хирургическая тактика.

В настоящее время немаловажным является качество жизни онкологических больных на различных этапах противоопухолевого лечения и после него. Необходима интраоперационная профилактика возможных осложнений, таких как длительная лимфорея, развитие вторичных лимфатических отеков конечностей.

Данное клиническое наблюдение демонстрирует пример хирургической реабилитации одной пациентки с применением двух видов ауто-лоскутов. Перемещение сальникового ауто-трансплантата в сочетании с аутодермопластикой позволило полностью закрыть сформировавшийся обширный послеоперационный дефект. Благодаря иммунологическим, ангиогенным, лимфодрунирующим свойствам, гибкости и пластичности, сальник представляет собой универсальный орган в реконструкции сложных ран и является средством профилактики развития лимфедемы руки. Малая грудная мышца, тампонируя подключично-подмышечную область, замещает «пустое» пространство после лимфаденэктомии, снижая длительность и объем послеоперационной лимфореи.

Применение аутологических тканей и их комбинация способствует улучшению качества жизни больных, оперированных по поводу местнораспространенного рака молочной железы, сокращению сроков госпитализации и финансово-экономических затрат на лечение.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Давыдов М.И., Летьгин В.П.* Практическая маммология. М.: Практическая медицина. 2007; 6.
2. *Адамьян А.А., Ромашов Ю.В.* Реконструкция грудной стенки при онкологических заболеваниях. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* 1997; 3: 32-41.
3. *Адамьян А.А., Зураев Г.Ц., Ромашов Ю.В.* Хирургическая коррекция дефектов грудной стенки и молочной железы при синдроме Поланда. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* 1998; 4: 54-65.
4. *Galli A., Raposio E., Santi P.* Reconstruction of fullthickness defects of the thoracic wall by myocutaneous flap transfer: latissimus dorsi compared with transverse rectus abdominis. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.* 1995; 29(1): 39-43.
5. *Решетов И.В., Чиссов В.И.* Пластическая и реконструктивная микрохирургия в онкологии. – М.: ООО РИФ «Строй-материалы». 2001; 168-170.
6. *Lieberman-Meffert D., White H.* The greater omentum. New York: Springer-Verlag. 1989; 74.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ И СЕПСИСА В ОНКОХИРУРГИИ

Донскова Ю.С.

Московский научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена Минздрава России, Москва, Россия

Контакты: Донскова Ю.С. E-mail: donskovaus@mail.ru

Цель. Обзор посвящен анализу клинического значения исследования концентрации в плазме крови различных биологических маркеров (БМ), отражающих наличие и развитие системного воспалительного ответа (ССВО). В последние десятилетия интерес патофизиологов, специалистов по терапии критических состояний к изучению особенностей формирования ССВО и сепсиса непрерывно растет.

Материалы и методы. Представлен анализ результатов отечественных и зарубежных исследований, проведенных в последние 15 лет, посвященных изучению специфичности и чувствительности БМ различных групп в отношении диагностики и стратификации ССВО. Анализ направлен на выявление наиболее доступных клиническим критериев, позволяющих определить трансформацию местной воспалительной реакции в системную, развитие инфекционного осложнения, прогноз и исход заболевания, оценить эффективность лечения. Проведена оценка диагностической ценности БМ разных групп: белков острой фазы, клеточных БМ, цитокинов/хемокинов, рецепторов, коагуляционных показателей, БМ повреждения эндотелия сосудов, БМ вазодилатации, БМ органной дисфункции.

Выводы. В настоящее время клиницисты не располагают биологическими маркерами, обладающими высокой степенью чувствительности и специфичности в отношении ССВО и сепсиса, диагностика которых затратна и трудоемка, так как основана на комплексном мониторинге множества лабораторных показателей, интегральных шкалах оценки тяжести состояния больных, разработанных более 20 лет назад. Исследователи единодушно пришли к выводу, что необходимо дальнейшее изучение механизмов формирования и развития воспалительной реакции и поиск доступных клиницистам и информативных биологических маркеров.

Ключевые слова: синдром системного воспалительного ответа, сепсис, белки острой фазы, цитокины, иммуносупрессия.

Развивающиеся технологии в современной хирургии, анестезиологии и интенсивной терапии привели к радикальному изменению представлений о возможностях хирургического и комбинированного лечения онкологических больных. Операции, выполняемые в крупных онкологических клиниках больным с местнораспространенным

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC ROLE OF BIOMARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE AND SEPSIS IN ONCOSURGERY

Donskova Ju.S.

P.A. Herzen Moscow Cancer Research Institute,
Moscow, Russia

Contact: Donskova Ju.S. E-mail: donskovaus@mail.ru

The objective. To analyze clinical importance of measurement of serum levels of different biological molecules reflecting the presence and development of systemic inflammatory response.

Materials and methods. The review of Russian and foreign studies conducted for 15 years, for specific and sensitivity of different biomarkers in diagnosis and stratification of systemic inflammatory response is represented. The analysis were performed to determine the most available for practitioners criteria, which showed transformation of local inflammatory reaction to systemic, infection, prognosis and outcome of the disease, efficacy of treatment. We assessed diagnostic value of different biomolecules as follows: acute phase proteins, cellular biomolecules, cytokines/chemokines, receptors, parameters of coagulation, damage of vascular endothelium, vasodilatation, organ dysfunction caused by biomolecules.

Conclusion. Practitioners have no biomarkers characterized by high sensitivity and specificity for systemic inflammatory response and sepsis. The diagnosis of systemic inflammatory response and sepsis is costly and labor intensive, because of monitoring of multiple laboratory parameters, integral scales for assessment of severity of patient status, have been developed 20 years ago. There is a consensus that it is necessary to study the mechanisms of development of inflammatory response and to search for appropriate biological markets and информативных biomolecules.

Key words: systemic inflammatory response, sepsis, acute phase proteins, cytokines, immunosuppression.

процессом, как правило, сопряжены с многоуровневой лимфодиссекцией, резекцией/удалением более одного органа, сопровождаются повышенной кровопотерей, дополняются различными методами противоопухолевого воздействия – радиочастотной абляцией опухоли или метастазов, флюоресцентной диагностикой и фотодинамической

терапией, интраоперационной лучевой терапией, гипертермией, интраоперационной химиотерапией. На организм онкологического больного оказывается агрессивное мультимодальное воздействие, приводящее к развитию ответной воспалительной реакции, называемой синдромом системного воспалительного ответа (ССВО). ССВО характеризуется активацией, а затем истощением защитных систем организма, возникновением иммуносупрессии, вплоть до «паралича» иммунной системы (ИС) [1]. Своевременная диагностика стадии и степени тяжести ССВО определяет тактику интенсивной терапии, от нее зависят частота возникновения гнойно-септических осложнений, время пребывания в стационаре, летальность, общая стоимость и эффективность лечения.

Считается, что ИС онкологических больных изначально скомпрометирована, так как возникновение и прогрессирование новообразований происходит на фоне принципиальных искажений механизмов ее функционирования [2]. Онкологические больные относятся к наивысшей группе риска развития послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений, частота возникновения которых, по данным литературы, составляет 5-7%, а для расширенных травматических операций – 18-25%. Средний уровень летальности при развитии сепсиса у больных с гнойно-воспалительными осложнениями достигает 35%, с септическим шоком – 60-70% [3]. Материальные затраты на лечение и реабилитацию больных с послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями и сепсисом крайне высоки.

На протяжении последних десятилетий интерес патофизиологов, реаниматологов и специалистов по терапии критических состояний к изучению особенностей формирования и развития воспалительного ответа при различных патологических состояниях непрерывно растет. Накапливаются фактические данные о компонентах ИС и механизмах ее регуляции, появляются новые возможности лабораторной диагностики, препараты для проведения направленной иммуномодулирующей (в т. ч. заместительной) терапии.

ССВО – чрезвычайно сложная цепь событий, включающая воспалительные и противовоспалительные процессы, гуморальные и клеточные реакции, циркуляторные расстройства [4]. Диагностика ССВО, оценка степени его тяжести осложняется изменчивостью и неспецифичностью клинических и лабораторных проявлений, большим количеством лабораторных показателей, указывающих на наличие воспалительного процесса [5].

Диагноз ССВО, по рекомендациям Чикагской согласительной конференции [6], устанавливается при наличии не менее двух из нижеперечисленных критериев: тахикардии >90 уд./мин; тахипноэ >20 в 1 мин или $\text{PaCO}_2 <32$ мм рт. ст. на фоне искус-

ственной вентиляции легких; температуры $>38^\circ\text{C}$ или $<36^\circ\text{C}$; количества лейкоцитов в периферической крови $>12 \times 10^9$ /л или $<4 \times 10^9$ /л, или числа незрелых форм клеток $>10\%$. Основным критерием развития сепсиса, безусловно, является бактериемия. Однако при проведении современной антимикробной химиотерапии частота выявления бактериального роста в посевах крови больных сепсисом не превышает 30%, и диагноз устанавливается при наличии двух и более критериев ССВО и потенциального очага инфицирования. Мировая медицинская общественность признает существенные недостатки предложенных на Чикагской конференции положений, которые не учитывают особенностей иммунореактивности при ССВО и сепсисе, функциональную дезинтеграцию нервной и эндокринной систем и опираются на достаточно поздние клинико-лабораторные проявления ССВО.

В настоящее время на практике применяются методы оценки тяжести нарушений со стороны отдельных органов и систем, разработанные более 20 лет назад, – расчет респираторного индекса, ренального индекса, шкала ком Глазго и др., а также способы интегральной оценки тяжести состояния больных: индексы (шкалы) TISS, CHOP, APACHE-I, -II, -III, ВПХ-СП, ВПХ-СГ, SAPS, SOFA, MODS (Knaus W., 1985, 1991; Le Gall J., Loirat P., 1984, 1993; Vincent J.L., Moreno R., 1996; Bone R.C., 1996; Marshall J., 1995; Гуманенко Е.К., Бояринцев В.В., 1996). Все эти методы весьма громоздки и трудоемки. Даже в совокупности они не позволяют осуществлять раннюю диагностику и прогнозирование ССВО и сепсиса, ограничиваясь решением задачи прогноза синдрома полиорганной недостаточности и висцеральных осложнений у хирургических больных [6].

Ранняя диагностика и стратификация тяжести ССВО крайне важна для клиницистов, так как позволяет начать своевременное и специфическое лечение [7]. Не менее важно иметь четкие критерии, позволяющие с высокой степенью вероятности прогнозировать на дооперационном этапе развитие послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений и проводить их профилактику. Биологические маркеры (БМ) могли бы играть важную роль в этом процессе, так как потенциально способны указать на наличие или отсутствие ССВО и степень его тяжести, служить критериями дифференциальной диагностики между инфекционной и неинфекционной природой ССВО, указать на наличие бактериальной, вирусной или грибковой инфекции, местной или системной воспалительной реакции, на манифестацию сепсиса. Другой потенциальной нишей БМ могло бы стать их использование при проведении целевой антибактериальной терапии, оценке эффективности интенсивной инфузионной терапии, прогнозировании осложнений ССВО и сепсиса – органических дисфункций (сер-

дечной, почечной, печеночной, дыхательной или полиорганной недостаточности) [8, 9].

В области мониторинга сепсиса исследовано значительно большее количество БМ, чем в какой-либо другой области медицины. Например, для диагностики и прогноза при остром инфаркте миокарда предложено 14 БМ [10], при болезни Альцгеймера – 8 [11]. Для диагностики ССВО и сепсиса к концу 2010 года в специальной литературе было упомянуто 182 биомаркера, из которых 18 было оценено только в эксперименте, 103 – только в клинических исследованиях, в обоих видах исследований – 61. Тридцать четыре маркера были определены как специфичные для диагностики сепсиса, но только для 5 из них чувствительность составила более 90% [12]. Такое различие в количестве исследуемых БМ связано с чрезвычайно сложной патофизиологией ССВО, обусловленной множеством медиаторов воспаления, активацией систем комплемента, коагуляции, апоптоза; исследуется клиническое и прогностическое значение маркеров, представляющих каждое из звеньев этого многоуровневого процесса [13].

Однако роль БМ в диагностике ССВО, профилактике и лечении сепсиса для практикующих специалистов остается неопределенной. Например, была поставлена под сомнение специфичность С-реактивного белка, применявшегося на протяжении многих лет [14, 15]. Значение прокальцитонина, предложенного в качестве более специфичного и лучшего для прогноза маркера, также оспаривается, так как указаний на инфекционную или неинфекционную природу ССВО этот маркер не дает [16, 17]. В клинических и экспериментальных исследованиях ведется активный поиск БМ, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью для различных стадий ССВО и сепсиса.

Как было указано выше, большинство БМ исследовано клинически, а не экспериментально. Это обусловлено сложностями создания экспериментальной модели, отражающей все особенности и стадии ССВО и сепсиса у человека. В экспериментальной модели трудно вычленивать для каждой стадии ССВО маркеры, пригодные для использования в клинической практике. «Золотого стандарта» мониторинга и лечения ССВО не существует, поэтому эффективность и чувствительность всех исследуемых маркеров сравнивают с уже существующими маркерами, клиническими симптомами и динамикой лабораторных показателей [18]. Значительное количество исследованных в последние годы БМ действительно могут стать полезными клиницистам, но их мониторинг сопряжен с большими временными и экономическими затратами. Многие БМ давно используются для диагностики других, менее тяжелых состояний. Например, коагуляционные тесты и определение уровня холестерина часто применяют в

клинической практике, однако их специфичность для диагностики ССВО низка, и они служат лишь дополнительными критериями оценки тяжести состояния больного в комплексе с другими лабораторными и клиническими показателями [19].

Упомянутые в литературе БМ можно условно разделить на несколько групп: белки острой фазы, клеточные БМ, цитокины/хемокины, рецепторы, коагуляционные показатели, БМ повреждения эндотелия сосудов, БМ вазодилатации, БМ органных дисфункций. В качестве прогностических факторов описаны некоторые макро- и микроэлементы, играющие важную роль в работе ИС – цинк, селен, железо.

Белки острой фазы – большая группа функционально не связанных протеинов, концентрация в плазме которых увеличивается (положительные белки острой фазы) или уменьшается (отрицательные белки острой фазы) в ответ на повреждение тканей, острые инфекции, ожоги или хроническое воспаление. Белки острой фазы синтезируются преимущественно в печени, стимуляция их синтеза нейтрофильными гранулоцитами и макрофагами и поступление в кровяное русло осуществляется целым рядом цитокинов/хемокинов (наиболее известны IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α). Положительные белки острой фазы служат для регуляции врожденного иммунитета. Некоторые из них отвечают за уничтожение и подавление роста микроорганизмов, другие поддерживают реципрокные связи клеток и структур, осуществляющих воспалительный ответ. Из множества БМ клиницисты наиболее широко применяют, вероятно, белки острой фазы. Особенно широко известен прокальцитонин (ПКТ). Специфичность и чувствительность ПКТ для диагностики сепсиса относительно низка (<90%). Уровень ПКТ повышается при различных процессах, связанных с воспалительным ответом – травмах, хирургических вмешательствах, заболеваниях щитовидной/паращитовидной железы [20, 21]. Мониторинг уровня ПКТ у хирургических пациентов может указать на эффективность или неэффективность проводимой антибактериальной терапии, возникновение гнойно-септического осложнения. Снижение повышенного уровня ПКТ на фоне терапии более чем на 50% свидетельствует об эффективности лечения и является критерием благоприятного прогноза [22-24].

С-реактивный белок (СРБ) считается менее специфичным БМ для диагностики ССВО и сепсиса, но его определение часто используется в клинической практике в связи с доступностью. Повышение уровня СРБ свидетельствует о наличии системной воспалительной реакции, высокий уровень СРБ в сыворотке крови хирургических пациентов коррелирует с увеличением риска органных дисфункций и летальностью [25], и его мониторинг помогает оценить эффективность проводимого лечения.

Среди других белков острой фазы в литературе описаны исследования α -1А-гликопротеина (коррелирует со степенью тяжести по шкале SOFA и выживаемостью) [26]; липополисахарид-связывающего протеина (повышается при сепсисе в сравнении с ССВО у хирургических пациентов, но не имеет прогностического значения) [27]; ферритина (коррелирует со шкалой SOFA, достоверно различается у выживших и умерших пациентов, является предиктором пессимистического прогноза) [28]; церулоплазмину, снижение концентрации которого в ряде клинических исследованиях связывают с дисфункцией печени [29]. Специфичность этих БМ в отношении ССВО и сепсиса низка, особенно при онкологических заболеваниях. Так, уровень церулоплазмину в сыворотке крови неонкологических пациентов значительно возрастает при различных инфекционных заболеваниях, в начальных стадиях острых воспалительных процессов, в раннем периоде после травмы/операции и снижается при хронизации процесса. У 60% онкологических больных на предоперационном этапе наблюдается снижение активности церулоплазмину и каталазы, уровня лактоферрина – компонентов антиокислительного звена окислительно-антиокислительной системы, т. е. наблюдается подавление процессов антиоксидантной защиты на дооперационном этапе, и определение уровня церулоплазмину с целью диагностики ССВО не является информативным [30]. Концентрация ферритина может повышаться при некоторых острых и хронических заболеваниях печени, при голодании и истощении, наличии воспалительных процессов, инфаркте миокарда. Определение ферритина в онкологии можно использовать для оценки эффективности нутритивной терапии онкологических больных, дифференциальной диагностики между железодефицитной анемией и проявлением токсико-анемических симптомов онкологического процесса, для диагностики и мониторинга онкологических заболеваний, в частности, метастатического поражения костного мозга. Уровень α -1А-гликопротеина в 1,5 раза выше нормы обнаруживают у 25% больных немелкоклеточным раком легкого, этот маркер используют в качестве предиктора чувствительности опухоли к химиопрепаратам (таксанам).

БМ повреждения эндотелия сосудов. В литературе описаны исследования 13 БМ, указывающих на повреждение эндотелия сосудов, исследованных при ССВО и сепсисе. Все они изучены в клинических исследованиях, и только для двух БМ показана достаточно высокая чувствительность и специфичность при ССВО и сепсисе. Это E-Selectin (клеточный и растворимый) и молекула адгезии сосудистой клетки (VCAM-1), изменение концентрации которых является предиктором полиорганной дисфункции [31]. Экспрессия VCAM-1 по-

вышена также при воспалительных заболеваниях кишечника, распространенном атеросклерозе, отторжении аллотрансплантатов, бронхиальной астме и других состояниях, связанных с воспалением, поэтому прогностической ценностью этот БМ обладает только при тщательном мониторинге на всех этапах лечения. Исследовались также ангиопоэтин, молекула эндотелиальной адгезии лейкоцитов (ELAM)-1, эндотелиальные клетки-предшественники (сЕPC), молекулы внутриклеточной адгезии (ICAM)-1, L-Selectine (растворимый), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор Виллебрандта. Возрастание концентрации этих БМ отмечено при сепсисе в сравнении с ССВО и при развитии полиорганной дисфункции: фактор Виллебрандта проявил себя предиктором развития острого повреждения легких в экспериментальных и клинических исследованиях, гиперпродукцию ангиопоэтина-2 связывают с повреждением эндотелия гломерулярного аппарата почек, но результаты, по мнению авторов этих исследований, нуждаются в уточнении [32–35].

Необходимо отметить, что повреждение эндотелия сосудов ассоциировано с поздними стадиями ССВО и тяжелой его степенью, с появлением клинико-лабораторных симптомов органических дисфункций. Мониторинг этих БМ мог бы внести существенный вклад в оценку состояния пациентов, и их прогностическая ценность нуждается в дальнейшем изучении.

БМ вазодилатации. Повышение концентрации оксида азота (NO), адреномедуллина, ангиотензин-конвертирующего фермента, эластина, натрийуретического пептида С-типа отмечено при развитии сепсиса в сравнении со здоровыми донорами в клинических исследованиях с количеством пациентов менее 50; исследований, проведенных у хирургических пациентов на этапах лечения, в литературе не найдено [36]. Субстанция Р описывается как предиктор летального исхода, увеличение концентрации вазоактивного интестинального пептида (VIP) в пробах тканей описано у пациентов с разлитым перитонитом в сравнении с хирургическими больными без осложнений [37–39].

БМ органических дисфункций. В литературе найдены данные по 14 БМ, связанным с органическими дисфункциями. Наиболее широко известен и применяется в клинике тропонин, концентрация которого у больных сепсисом различается между выжившими и умершими, коррелирует со шкалой APACHE II и указывает на повреждение миокардиоцитов [40]. Специфичность этого БМ в отношении ССВО и сепсиса низка, так как он может повышаться у хирургических больных с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией при ишемических атаках или остром инфаркте миокарда, не связанными с воспалительным ответом. Концентрации натрийуретических пептидов (Atrial natriuretic pep-

tide и Brain natriuretic peptide), эндотелина-1 и про-эндотелина-1 также различны у выживших и умерших, и могут быть использованы в качестве критериев прогноза. Снижение уровня фактора роста гепатоцитов (HGF) может служить критерием эффективности терапии [41–44].

Цитокины – большая группа соединений, которые потенциально могут служить маркерами ССВО. Эти продуцируемые клетками белково-пептидные факторы осуществляют регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий, определяют выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование их роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз. К настоящему времени идентифицировано более 300 цитокинов, и определение их в клинической практике при самых различных нозологиях стремительно развивается.

Как и для всех БМ, целью исследования уровней цитокинов в клинической практике является попытка оценить тяжесть процесса, эффективность терапии, прогноз [45].

С точки зрения клиницистов и патофизиологов, цитокины являются крайне привлекательными БМ ССВО, так как именно они служат медиаторами всех реакций, связанных с ответом на повреждение тканей. Однако при сравнении данных, полученных разными группами исследователей, динамика про- и противовоспалительных цитокинов оказывается идентичной при различных патологических состояниях (остром инфаркте миокарда, ревматических атаках, деструктивном панкреатите и др.) [46–49]. Биологические эффекты многих цитокинов и, в частности, наиболее широко используемых в клинике интерлейкинов имеют высокую степень идентичности, что, с одной стороны, обеспечивает широкие компенсаторные возможности ИС в случае дефицита каких-либо медиаторов, но, с другой – приводит к отсутствию корреляции между содержанием отдельных цитокинов, особенностями клинического течения воспалительного процесса и эффективностью терапии [45]. Сложность интерпретации цитокинового профиля заключается еще и в том, что сроки появления пиковых значений в крови для разных цитокинов различны. Так, для IL-2 это 12 ч, для IL-4 и IL-5 – 48 ч, для IL-9 и INF γ – 72 ч. После выделения клетками-продуцентами цитокины имеют короткий период полувыведения из кровотока. До 50% циркулирующих цитокинов катаболизируются и выводятся из организма в течение 30 минут печенью и почками [50, 51].

При онкологических заболеваниях сложность изучения цитокиновой регуляции достигает своего максимума, так как различные опухолевые клетки также служат источниками продукции многих цитокинов (TNF α , TNF β , PDGF, EGF и др.), подавляющего большинства всех известных интерлейкинов и рецепторов к ним [45]. Например, TNF α

является наиболее известным цитокином, отвечающим за повреждение эндотелия. Он оказывает прямой цитотоксический эффект на паренхиматозные клетки-мишени, повреждает эндотелиальные клетки и увеличивает проницаемость стенки капилляров, вызывает активацию коагуляционного гемостаза и комплемента. Выраженная активация реакции комплемента сопровождается повышением проницаемости сосудистой стенки и выделением гистамина. TNF α является одним из ключевых медиаторов сепсиса, его введение экспериментальным животным приводит к состоянию, имитирующему сепсис. У большинства онкологических больных уровень TNF α и антител к нему (даже без цитокиновой терапии) изначально повышен, так как он выделяется опухолевыми клетками. В некоторых исследованиях сообщается о повышении уровня TNF α при других патологических состояниях – туберкулезе легких, фиброаденоматозе. Уровень повышения содержания TNF α при туберкулезе легких варьирует от величин, сравнимых со здоровыми донорами (0–50 пкг/л), до величин, превышающих уровень у больных раком легкого ($>158 \pm 45,4$ пкг/л), что авторы объясняют либо активностью воспалительного процесса, либо наличием антител к TNF α . Все эти противоречивые данные нуждаются в дальнейшем изучении и существенно осложняют клиническую интерпретацию динамики этого БМ [45, 46].

Разброс нормальных значений уровней обычно исследуемых цитокинов велик и у неонкологических хирургических пациентов, поэтому для интерпретации их динамики в послеоперационном периоде необходимо знать исходные величины. Для правильной клинической оценки динамики содержания цитокинов в крови онкологического больного необходимо учитывать вариант дифференцировки опухоли, ее локализацию и степень злокачественности [46], что, вкупе с высокой стоимостью и низкой доступностью этого метода диагностики, пока не позволяет рекомендовать его для широкого применения.

Большое количество работ посвящено исследованию клинической ценности HMGB-1 (High mobility group box 1) – ядерного белка, активно продуцируемого макрофагами и освобождающегося из поврежденных клеток. Обладая свойствами сигнального и регуляторного белка, внеклеточный HMGB-1 является так называемым «маркером некроза», избранным ИС для распознавания тканевых повреждений, и служит «спусковым крючком» для запуска каскада цитокиновых взаимодействий, формирующих воспалительный ответ. В ряде исследований (в эксперименте и в клинике) показано, что уровень HMGB-1 в сыворотке коррелирует со степенью тяжести ССВО и уровнем провоспалительных цитокинов (IL-6) у пациентов при плановых хирургических вмешательствах и при травме

[52, 53]. По данным, представленным в литературе, складывается мнение о потенциально высокой диагностической, прогностической и терапевтической ценности этого БМ, но необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

В последние годы появилась новая возможность множественного анализа параметров цитокинового статуса при помощи автоматизированного анализатора Bio-Plex (Bio-Rad Laboratories, USA), позволяющего проводить количественные исследования более 100 биологических молекул в одном тестируемом образце (кровь, сыворотка, слюна, моча и др.). Разработанные тест-системы позволяют определять уровень более 17 цитокинов, проводить изотипирование 7 иммуноглобулинов, 9 показателей активной фазы воспаления и 9 аналитов ангиогенеза, что открывает широкие перспективы в изучении каскада цитокиновых реакций и механизмов развития многих патофизиологических процессов [54].

Клеточные БМ (показатели клеточного иммунитета). Изучение динамики показателей клеточного иммунитета – иммунограммы – широко представлено в литературе при самых различных состояниях, связанных с воспалительным ответом. Показано, что при хирургических вмешательствах страдают все основные компоненты ИС. По данным и экспериментальных, и клинических исследований в первые сутки после операции/травмы в крови уменьшается содержание общего числа Т-лимфоцитов, изменяется соотношение их субпопуляций. Исключением являются онкологические пациенты, которым выполнялась нефроректомия – у них в ряде случаев наблюдалось повышение числа Т-лимфоцитов, что, вероятно, связано с гормонпродуцирующей функцией почек и надпочечников и низкой их толерантности к гипоксии [55]. Во всех других группах пациентов уменьшение числа Т-лимфоцитов сопровождается снижением их функциональной активности, и это состояние сохраняется от 7 до 14 суток; далее, при неосложненном течении послеоперационного периода происходит постепенное возвращение показателей к исходному уровню. Такие изменения иммунологических показателей признают адаптивной (адекватной и транзиторной) реакцией организма на хирургическую травму. Однако в случае воздействия экстремального по силе повреждающего воздействия (политравма, симультанные онкологические операции, особенно с интраоперационным облучением, массивной кровопотерей), адаптационные возможности ИС истощаются, возникает полная дезорганизация всей системы иммунореактивности с утратой функциональной активности ее звеньев. Такое состояние называют анергией или «параличом» ИС; для иммунограммы характерна «монотонность» – отсутствие существенной динамики сниженных показателей [30,

56]. Риск развития гнойно-септических осложнений у таких пациентов крайне высок, репаративные процессы замедлены.

Как и другие БМ, иммунограмма может служить только косвенным подтверждением неблагополучия в состоянии больного; отвергнуть или подтвердить наличие ССВО, определить его фазу, подтвердить присоединение бактериальной, вирусной или грибковой инфекции при помощи анализа иммунограммы невозможно. В ряде работ показана значимость показателей CD25 (активированные В-лимфоциты), HLA-DR и системы комплемента для дифференциальной диагностики между ССВО и сепсисом, однако правильную интерпретацию этих показателей, как и других показателей ИС, можно проводить, лишь зная исходные величины, сроки и этапы лечения, клиническую картину, компоненты интенсивной терапии [57–59].

Для должного функционирования ИС необходим ряд макро- и микроэлементов. Определение наиболее значимых из них (цинка, селена, железа) широко представлено в литературе. Установлено, что дефицит цинка приводит к атрофии тимуса и потере предшественников Т- и В-лимфоцитов в костном мозге за счет индукции глюкокортикоид-зависимого апоптоза с последующей лимфопенией и иммунодефицитом. Недостаток цинка способствует накоплению Th2 клеток, угнетает активность НК-клеток и лимфокин-активированных киллеров, а также митоген-зависимую пролиферацию лимфоцитов. Ионы железа регулируют уровень трансферрина и других транспортных белков, ответ на эритропоэтин, необходимый для стимуляции эритроидных предшественников, участвуют в системе свободно-радикального окисления в лимфоцитах и нейтрофилах, регулируют уровень миелопероксидазы и генерацию супероксидного аниона. Дефицит железа понижает напряженность природного иммунитета при бактериальной и вирусной инфекции. Дефицит селена ведет к нарушению фагоцитоза, снижению числа CD4+ Т-клеток и активности НК-клеток. Основной функциональной ролью микроэлементов в клетках ИС является их участие в качестве кофакторов или катализаторов ферментов свободно-радикального окисления. Сниженное их содержание в предоперационном периоде является признаком иммуносупрессии и предиктором послеоперационных гнойно-воспалительных нарушений. Повышение концентрации микроэлементов на фоне лечения может служить критерием эффективности терапии [60–62].

Таким образом, несмотря на огромное количество БМ, доступных клиницистам, нет ни одного лабораторного критерия, который с высокой степенью достоверности мог бы указать на стадию и степень тяжести ССВО, наличие или отсутствие сепсиса.

Предлагаемые БМ могут лишь косвенно, в совокупности с другими лабораторными и клиническими критериями, указать на наличие системной воспалительной реакции, но оценить степень адекватности воспалительного ответа перенесенному повреждению, опираясь на количественное определение отдельных БМ, пока не представляется возможным. Поиск простых и доступных в клинической практике критериев, отражающих трансформацию воспалительной реакции в ССВО и сепсис, по-прежнему остается актуальной задачей.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Angus D.C., Linde-Zwirble W.T., Lidicker J., Clermont G., Carcillo J., Pinsky M.R.** Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit. Care Med.* 2001; 29: 1303-1310.
2. **Антонов В.Г., Козлов В.К.** Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности. Цитокины и воспаление. 2004; 3(1): 8-19.
3. **Hotchkiss R.S., Karl I.E.** The pathophysiology and treatment of sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 138-150.
4. **Афанасьева А.Н., Одинцова И.Н., Удут В.В.** Синдромы эндогенной интоксикации и системного воспалительного ответа: общность и различия. *Анестезиология и реаниматология.* 2007; 4: 67-70.
5. **Gullo A., Bianco N., Berlot G.** Management of severe sepsis and septic shock: challenges and recommendations. *Crit. Care Clin.* 2006; 22: IX: 489-501.
6. **Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н., Черешнев В.А., Зотова Н.В.** Методология изучения системного воспаления. Цитокины и воспаление. 2008; 7(1): 15-23.
7. **Shapiro N.I., Trzeciak S., Hollander J.E., Birkhahn R., Otero R., Osborn T.M., Moretti E., Nguyen H.B., Gunnerson K.J., Milzman D., Gaieski D.F., Goyal M., Cairns C.B., Ngo L., Rivers E.P.** A prospective, multicenter derivation of a biomarker panel to assess risk of organ dysfunction, shock, and death in emergency department patients with suspected sepsis. *Crit. Care Med.* 2009; 37: 96-104.
8. American College of Chest Physicians. Society of Clinical Care Medicine Consensus Conference: Definition for sepsis and organ failure and guidelines for use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.* 1992; 20(6): 864-874.
9. **Zambon M., Ceola M., Almeida-de-Castro R., Gullo A., Vincent J.L.** Implementation of the Surviving Sepsis Campaign guidelines for severe sepsis and septic shock: we could go faster. *J. Crit. Care.* 2008; 23: 455-460.
10. Biomarkers Definitions Working Group: Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001; 69: 89-95.
11. **Marshall J.C., Reinhart K.** Biomarkers of sepsis. *Crit. Care Med.* 2009; 37: 2290-2298.
12. **Penttila I., Penttila K., Rantanen T.** Laboratory diagnosis of patients with acute chest pain. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2000; 38: 187-197.
13. **Tang B.L., Kumar R.** Biomarkers of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Ann. Acad. Med. Singapore.* 2008; 37: 406-410.
14. **Marshall J.C., Vincent J.L., Fink M.P., Cook D.J., Rubenfeld G., Foster D., Fisher C.J., Jr., Faist E., Reinhart K.** Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October. 25-26, 2000. *Crit. Care Med.* 2003; 31: 1560-1567.
15. **Povoa P., Coelho L., Almeida E., Fernandes A., Mealha R., Moreira P., Sabino H.** C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clin. Microbiol. Infect.* 2005; 11: 101-108.
16. **Schmit X., Vincent J.L.** The time course of blood C-reactive protein concentrations in relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. *Infection.* 2008; 36: 213-219.
17. **Cicarelli D.D., Vieira J.E., Bensenor F.E.** Comparison of C-reactive protein and serum amyloid A protein in septic shock patients. *Mediators Inflamm.* 2008; 2008: 631414.
18. **Nakamura A., Wada H., Ikejiri M., Hatada T., Sakurai H., Matsushima Y., Nishioka J., Maruyama K., Isaji S., Takeda T., Nobori T.** Efficacy of procalcitonin in the early diagnosis of bacterial infections in a critical care unit. *Shock.* 2009; 31: 591.
19. **Memis D., Gursoy O., Tasdogan M., Sut N., Kurt I., Ture M., Karamanlioglu B.** High C-reactive protein and low cholesterol levels are prognostic markers of survival in severe sepsis. *J. Clin. Anesth.* 2007; 19: 186-191.
20. **Luzzani A., Polati E., Dorizzi R., Rungtatscher A., Pavan R., Merlini A.** Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit. Care Med.* 2003; 31: 1737-1741.
21. **Levy M.M., Fink M.P., Marshall J.C., Abraham E., Angus D., Cook D., Cohen J., Opal S.M., Vincent J.L., Ramsay G.** 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit. Care Med.* 2003; 31: 1250-1256.
22. **Mimoz O., Benoist J.F., Edouard A.R., Assicot M., Bohuon C., Samii K.** Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med.* 1998; 24: 185-188.
23. **Meisner M., Tschaikowsky K., Hutzler A., Schick C., Schuttler J.** Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med.* 1998; 24: 680-684.
24. **Hensel M., Volk T., Docke W.D., Kern F., Tschirna D., Egerer K., Konertz W., Kox W.J.** Hyperprocalcitonemia in patients with noninfectious SIRS and pulmonary dysfunction associated with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology.* 1998; 89: 93-104.
25. **Lobo S.M., Lobo F.R., Bota D.P., Lopes-Ferreira F., Soliman H.M., Melot C., Vincent J.L.** C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest.* 2003; 123: 2043-2049.
26. **Brinkman-van der Linden E.C., van Ommen E.C., van Dijk W.** Glycosylation of alpha 1-acid glycoprotein in septic shock: changes in degree of branching and in expression of sialyl Lewis(x) groups. *Glycoconj. J.* 1996; 13: 27-31.
27. **Oude Nijhuis C.S., Vellenga E., Daenen S.M., van der Graaf W.T., Gietema J.A., Groen H.J., Kamps W.A., De Bont E.S.** Lipopolysaccharide-binding protein: a possible diagnostic marker for Gram-negative bacteremia in neutropenic cancer patients. *Intensive Care Med.* 2003; 29: 2157-2161.
28. **Garcia P.C., Longhi F., Branco R.G., Piva J.P., Lacks D., Tasker R.C.** Ferritin levels in children with severe sepsis and septic shock. *Acta Paediatr.* 2007; 96: 1829-1831.
29. **Chiara C., Giovannini I., Siegel J.H.** Patterns of correlation of plasma ceruloplasmin in sepsis. *J. Surg. Res.* 2008; 144: 107-110.
30. **Донскова Ю.С., Осипова Н.А., Немцова Е.Р., Эделева Н.В.** Состояние окислительно-антиокислительного баланса и иммунного статуса онкологических больных на этапах хирургического лечения с интраоперационной лучевой терапией. *Анестез. и реаним.* 2005; 5: 17-22.
31. **Cummings C.J., Sessler C.N., Beall L.D., Fisher B.J., Best A.M., Fowler A.A.** Soluble E-selectin levels in sepsis and critical illness. Correlation with infection and hemodynamic dysfunction. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156: 431-437.
32. **Figueras-Aloy J., Gomez-Lopez L., Rodriguez-Miguel J.M., Salvia-Roiges M.D., Jordan-Garcia I., Ferrer-Codina I., Car-**

- bonell-Estrany X., Jimenez-Gonzalez R.* Serum soluble ICAM-1, VCAM-1, L-selectin, and P-selectin levels as markers of infection and their relation to clinical severity in neonatal sepsis. *Am. J. Perinatol.* 2007; 24: 331-338.
33. *Correale M., et al.* Acute phase proteins in atherosclerosis (acute coronary syndrome). *Cardiovasc. Hematol. Agents. Med. Chem.* 2008; 6(4): 272-277.
 34. *Ono T., Mimuro J., Madoiwa S., Soejima K., Kashiwakura Y., Ishiwata A., Takano K., Ohmori T., Sakata Y.* Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood.* 2006; 107: 528-534.
 35. *Orfanos S.E., Kotanidou A., Glynos C., Athanasiou C., Tsigkos S., Dimopoulou I., Sotiropoulou C., Zakynthinos S., Armaganidis A., Papapetropoulos A., Roussos C.* Angiopietin-2 is increased in severe sepsis: correlation with inflammatory mediators. *Crit. Care. Med.* 2007; 35: 199-206.
 36. *Jiang W., Jiang H.F., Cai D.Y., Pan C.S., Qi Y.F., Pang Y.Z., Tang C.S.* Relationship between contents of adrenomedullin and distributions of neutral endopeptidase in blood and tissues of rats in septic shock. *Regul. Pept.* 2004; 118: 199-208.
 37. *Beer S., Weighardt H., Emmanuilidis K., Harzenetter M.D., Matevossian E., Heidecke C.D., Bartels H., Siewert J.R., Holzmann B.* Systemic neuropeptide levels as predictive indicators for lethal outcome in patients with postoperative sepsis. *Crit. Care. Med.* 2002; 30: 1794-1798.
 38. *Faury G., Wynnychenko T.M., Cand F., Leone M., Jacob M.P., Verdetti J., Boyle W.A.* Decreased circulating elastin peptide levels in humans with sepsis. *Pathol. Biol. (Paris).* 2005; 53: 443-447.
 39. *Jacob P., Mueller M.H., Hahn J., Wolk I., Mayer P., Nagele U., Hennenlotter J., Stenzl A., Konigsrainer A., Glatzle J.* Alterations of neuropeptides in the human gut during peritonitis. *Langenbecks Arch. Surg.* 2007; 392: 267-271.
 40. *Mehra N.J., Khan I.A., Gupta V., Jani K., Gowda R.M., Smith P.R.* Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *Int. J. Cardiol.* 2004; 95: 13-17.
 41. *Heuer J.G., Sharma G.R., Gerlitz B., Zhang T., Bailey D.L., Ding C., Berg D.T., Perkins D., Stephens E.J., Holmes K.C., Grubbs R.L., Fynboe K.A., Chen Y.F., Grinnell B., Jakubowski J.A.* Evaluation of protein C and other biomarkers as predictors of mortality in a rat cecal ligation and puncture model of sepsis. *Crit. Care. Med.* 2004; 32: 1570-1578.
 42. *Morgenthaler N.G., Struck J., Christ-Crain M., Bergmann A., Muller B.* Pro-atrial natriuretic peptide is a prognostic marker in sepsis, similar to the APACHE II score: an observational study. *Crit. Care.* 2005; 9: R37-R45.
 43. *Hartemink K.J., Groeneveld A.B., de Groot M.C., Strack van Schijndel R.J., van Kamp G., Thijs L.G.* Alpha-atrial natriuretic peptide, cyclic guanosine monophosphate, and endothelin in plasma as markers of myocardial depression in human septic shock. *Crit. Care. Med.* 2001; 29: 80-87.
 44. *Post F., Weilemann L.S., Messow C.M., Sinning C., Munzel T.* B-type natriuretic peptide as a marker for sepsis-induced myocardial depression in intensive care patients. *Crit. Care. Med.* 2008; 36: 3030-3037.
 45. *Аутенишлюс А.И., Шкунов А.Н., Иванова Г.Г., Проскура А.В., Михайлова Е.С., Седова Ю.В., Кузнецова Н.Б., Морозова Д.В., Клименков А.В., Сидоров С.В.* Содержание цитокинов IL-1 β , TNF α и уровни антител к TNF α у больных с онкологическими и воспалительными заболеваниями. *Цитокины и воспаление.* 2005; 4(3): 11-15.
 46. *Nayeri F., Nilsson I., Brudin L., Fryden A., Soderstrom C., Forsberg P.* High serum hepatocyte growth factor levels in the acute stage of community-acquired infectious diseases. *Scand. J. Infect. Dis.* 2002; 34: 127-130.
 47. *Бережная Н.М.* Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы. *Цитокины и воспаление.* 2007; 6(2): 26-34.
 48. *de Werra I., Jaccard C., Corradin S.B., Chiolero R., Yersin B., Gallati H., Assicot M., Bohuon C., Baumgartner J.D., Glauser M.P., Heumann D.* Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock, and bacterial pneumonia. *Crit. Care. Med.* 1997; 25: 607-613.
 49. *Калинина Н.М., Сосюкин А.Е., Волгожанин Д.А., Кузин А.А., Князев П.С.* Травма: воспаление и иммунитет. *Цитокины и воспаление.* 2005; 4(1): 28-35.
 50. *Weighardt H., Heidecke C.D., Westerholt A., Emmanuilidis K., Maier S., Veit M., Gerauer K., Matevossian E., Ulm K., Siewert J.R., Holzmann B.* Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis. *Ann. Surg.* 2002; 235: 560-567.
 51. *Collighan N., Giannoudis P.V., Kourgeraki O., Perry S.L., Guillou P.J., Bellamy M.C.* Interleukin 13 and inflammatory markers in human sepsis. *Br. J. Surg.* 2004; 91: 762-768.
 52. *Pisetsky D.S., et al.* High-mobility group box protein 1 (HMGB1): an alarmin mediating the pathogenesis of rheumatic disease. *Arthritis. Res. Ther.* 2008; 10(3): 209.
 53. *Sims G.P., et al.* HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer. *Annu. Rev. Immunol.* 2010; 28: 367-388.
 54. *Останин А.А., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я., Черных Е.Р., Коенков В.И.* Оценка цитокинового профиля у больных с тяжелым сепсисом методом проточной флюориметрии (Bio-Плех-анализ). *Цитокины и воспаление.* 2004; 3(1): 20-27.
 55. *Mizutani Y., Terachi F., Okada Y., Yoshida O.* Effect of surgical stress on immune function in patients with urologic cancer. *Int. J. Urol.* 1996; 3: 426-434.
 56. *Гришина Т.И.* Клиническое значение нарушений иммунитета при хирургических вмешательствах (обзор литературы). *Андрология и генитальная хирургия.* 2000; 2: 14-20.
 57. *Aalto H., Takala A., Kautiainen H., Siitonen S., Repo H.* Monocyte CD14 and soluble CD14 in predicting mortality of patients with severe community acquired infection. *Scand. J. Infect. Dis.* 2007; 39: 596-603.
 58. *Saito K., Wagatsuma T., Toyama H., Ejima Y., Hoshi K., Shibusawa M., Kato M., Kurosawa S.* Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating CD4+CD25+ regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. *Tohoku. J. Exp. Med.* 2008; 216: 61-68.
 59. *Monneret G., Lepape A., Voirin N., Bohe J., Venet F., Debard A.L., Thizy H., Bienvenu J., Gueyffier F., Vanhems P.* Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. *Intensive. Care. Med.* 2006; 32: 1175-1183.
 60. *Sandstead H.H., Prasad A.S., Penland J.G.* Zinc deficiency in Mexican American children: influence of zinc and other micronutrients on T cells, cytokines, and anti-inflammatory plasma proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 88(4): 1067-1073.
 61. *Sakr Y., Reinhardt K., Bloos F., Marx G., Russwurm S., Bauer M., Brunkhorst F.* Time course and relationship between plasma selenium concentrations, systemic inflammatory response, sepsis, and multiorgan failure. *Br. J. Anaesth.* 2007; 98: 775-784.
 62. *Hollenbach B., Morgenthaler N.G., Struck J., Alonso C., Bergmann A., Kohrle J., Schomburg L.* New assay for the measurement of selenoprotein P as a sepsis biomarker from serum. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* 2008; 22: 24-32.

РАК ПРЯМОЙ КИШКИ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ АВСТРИИ И ЧЕХИИ

Бенко Г.*, Дуцац В.**, Швехлова Д.***,
Хакл Г.*, Смола М.*, Пфайфер Дж.*

* Кафедра общей хирургии и отдел по хирургическим исследованиям Медицинский университет, г. Грац, Австрия
** Отделение хирургии, 3-й медицинский факультет, Карлов университет, Прага, Чешская Республика
*** Районная больница Турнов, Чешская Республика

Контакты: Иоганн Пфайфер E-mail: johann.pfeifer @ medunigraz.at

Введение. Это исследование осуществлялось с целью сравнения нынешней ситуации в отношении качества жизни после операции при раке прямой кишки в Чешской Республике (CZR) и Австрии (AUT).

Методы: С целью исследования качества жизни, пациентам, которым проводилось лечение рака прямой кишки в Карловом университете Праги (FNKV) и Медицинском университете г. Грац (MUG), были направлены специальные анкеты.

Кроме того, из статистических баз данных были собраны и проанализированы данные о смертности, продолжительности жизни и расходах на здравоохранение, по которым можно судить о качестве жизни.

Результаты: В период с 2003 по 2008 гг., в общей сложности 211 пациентов были изучены ретроспективно. В категориях «общее здоровье», «жизнеспособность» и «социальная адаптация» оценка анкет показала лучшие результаты для пациентов, получавших лечение в Австрии. По таким показателям как «нарушение половой функции» и «недержание мочи» между пациентами Австрии и Чехии существенных различий не было. За период с 1970 по 2006 гг. показатели смертности, данные по расходам на здравоохранение и ожидаемой продолжительности жизни для этих больных в Чехии и Австрии достоверно различались.

Вывод: Существуют некоторые различия в отношении качества жизни после операций на прямой кишке по поводу ректального рака между пациентами из Чешской республики и Австрии. В отношении показателей о смертности, расходах на здравоохранение и продолжительности жизни – в обеих странах присутствует положительная динамика.

ВВЕДЕНИЕ

Цель настоящего исследования - оценка качества жизни после хирургии при раке прямой кишки и определение различий между нынешними показателями в Чешской Республике и в Австрии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Пациенты: В данное исследование были включены все пациенты из больницы Карлова университета Праги (FNKV) и Медицинского университета Граца (MUG) с раком прямой кишки или карциномой ректосигмовидного соединения (C19, C20), перенесшие (низкую) переднюю резекцию прямой кишки в пятилетний период с 2003 по 2008 гг.

МЕТОДЫ

Ретроспективные данные о качестве жизни (КЖ) были получены из разосланных пациентам анкет. Если пациенты не отвечали в течение четырех недель, с ними связывались по телефону. Наши анкеты состояли из «Краткой формы медицинского обследования – 36 «Буллингера и Керчберга» 1998 г. (SF-36), которая была разработана для определения результатов лечения [2]; «Влияние недержания кала на КЖ» – Роквуда и др. (FIQL) - надежная и обоснованная статистическая система измерения влияния недержания кала на КЖ [3], а также двух дополнительных вопросов:

- нарушения половой функции;
- недержание мочи.

Из национальных и международных баз данных с помощью поисковых систем в Интернете были собраны и проанализированы соответствующие показатели смертности (ПС), средняя продолжительность жизни (СПЖ) и национальных расходов на здравоохранение (НР) в Чешской Республике и в Австрии.

Дополнительные методы лечения, такие, как химиотерапия, повторная аналгезия или психофармакологическое лечение не рассматривались. С целью определения среднего показателя в дальнейшем пациенты не классифицируются в зависимости от стадии опухоли, возраста, пола или даты операции.

Данные были обработаны с помощью Open Office Calculator®. При необходимости использовался Т-тест; принималось во внимание значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В общей сложности 447 анкет (297 из FNKV, 150 из MUG) были направлены пациентам, страдающим ректальным раком, перенесшим операции в период с января 2003 по декабрь 2008 года. Возврат составил 44% для чешских и 66% для австрийских пациентов. Восемнадцать анкет из MUG были исключены, т.к. эти пациенты прошли различное хирургическое лечение (ампутация прямой кишки) (Рис. 1).

Возраст пациентов колебался от 34 до 92 лет, при среднем возрасте 68,5 лет (FNKV) и 66,2 (MUG), 58% пациентов составили лица мужского пола, 42% — женского.

Для сравнения были использованы данные об уровне смертности (УС), средней продолжитель-

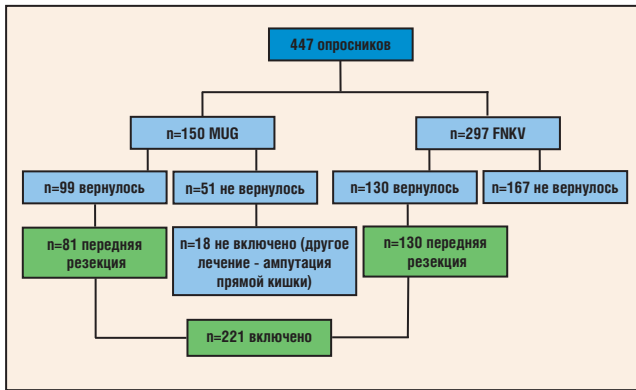


Рис. 1. Схема изучения анкет.

ности жизни (СПЖ) и национальных расходах на здравоохранение (НР), в Чехии\Чехословакии и в Австрии в период с 1970 по 2008 гг. (Далее «Чехия» понимается как общее название страны, которая в период с 1970 по 1989 гг. называлась Чехословакия).

Анкетные данные aSF-36 и FIQL приведены в таблице 1, при этом наилучший результат лечения равен 1.

	Min/ Max	Австрия (среднее± стандартное отклонение)	Чехия (среднее± стандартное отклонение)
SF-36			
Общее состояние здоровья	1-5	2.48±0.94	2.82±0.79
Физическая активность	1-3	2.49±0.62	2.35±0.67
Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием	1-2	1.56±0.49	1.53±0.5
Интенсивность боли	1-5	1.99±0.96	2.09±1.09
Жизненная активность	1-6	2.88±1.01	3.26±1.08
Социальная активность	1-5	1.82±0.88	2.08±0.91
Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием	1-2	1.68±0.44	1.58±0.49
Психическое здоровье	1-6	2.23±0.92	2.49±1.06
FIQL			
Образ жизни	1-4	3.02±1.05	3.04±0.96
Психологическая адаптация/ Поведение	1-4	2.77±1.06	2.93±0.94

Что касается «половой функции», 47% пациентов из FNKV (n=113) и 60% пациентов из MUG (n=73) отметили снижение сексуальной активности. Кроме того, 44% чешских и 36% австрийских пациентов сообщали о «недержании мочи» без или при напряжении (кашель, смех и поднятие тяжести).

Наблюдаются существенные различия при сравнении уровня смертности от рака прямой кишки (C19-C21, МКБ-10) в Чехии и в Австрии. Уровень смертности в Австрии был и остается ниже, чем смертность в Чешской Республике. Тем не менее, с 1995 года уровень смертности непрерывно снижается как в Чехии, так и в Австрии, а в Австрии даже с 1980 года [4] (Рис. 2).

Что касается колоректального рака (C18-C21, МКБ-10), то уровень смертности в Чехии снизился с 1994 года, и значительно снизился с 2003 года, в то время как уровень смертности в Австрии стабильно снижался в течение последних двух десятилетий [5] (Рис. 3).

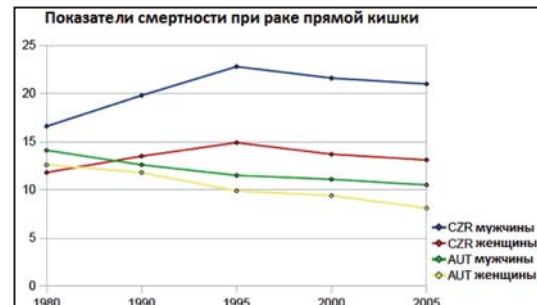


Рис. 2. Показатели смертности у пациентов с ректальным раком (C19-C21) по годам стандартизированные на 100 000 населения в Австрии и Чехии в период между 1980 и 2005 гг [4].

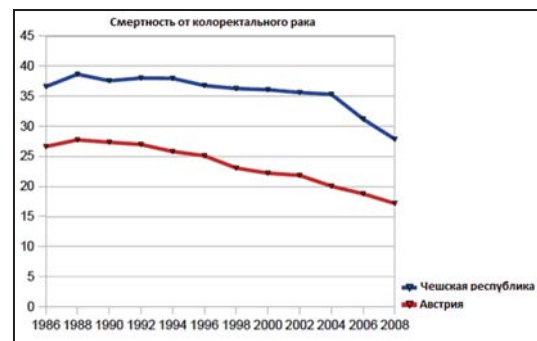


Рис. 3. Смертность среди чешских и австрийских пациентов от колоректального рака, стандартизированная по возрасту (на 100 000 населения) в период с 1986 по 2008 год [5].

Что касается СПЖ, то данные «Global Health Observatory» и «Eurostat» демонстрируют явное различие между австрийскими и чешскими показателями. В 1990 году ожидаемая продолжительность жизни от момента рождения для населения Австрии составляла 75,8 лет, а для Чехии - 71,4 лет, при разнице в 4,4 лет [6, 7]. К 1998 году СПЖ в Чехии возросла на 3,3 лет, что почти в два раза выше среднего показателя по ЕС в 1,7 лет [8]. К 2008 году СПЖ в Чешской Республике возросла в среднем до 77,3 лет (плюс 2,2 года по сравнению с 2000 годом (75,1)), и в Австрии в среднем до 80,4 лет (также плюс 2,2 года по сравнению с 2000 годом (78,3)) [6,7]. Таким образом, в последние два десятилетия продолжительность жизни неуклонно растет во всей Европе.

Рассматривая расходы на здравоохранение (РЗ) в Австрии за последние 40 лет, можно констатировать их постоянное увеличение. К сожалению, до 1990 года невозможно было получить доступ к соответствующим данным в Чешской Республике. С тех пор РЗ здесь также увеличились, но уровень расходов на душу населения в Чехии все еще значительно ниже, чем в Австрии (в 2008 году \$1781 и \$ 3970 соответственно) и среднего показателя по Европе (\$ 2964) на душу населения.

	Австрия ¹	Чехия ¹
1970	196	-
1980	785	-
1990	1623	558
1995	2239	897
2000	2862	982
2005	3472	1475
2007	3970	1781

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным «The Lancet», за последние 20 лет в системе здравоохранения Чешской Республики произошел уникальный переход от неэффективной командно-управляемой к одной из самых успешных и уважаемых в мире [10].

С целью сравнить качество жизни пациентов после лечения рака прямой кишки в Чехии и Австрии было проведено ретроспективное клиническое исследование. При котором было выявлено три существенных различия. Шкала общего здоровья показывает значительно лучшие результаты для пациентов MUG, в среднем $2,48 \pm 0,94$ по сравнению с $2,82 \pm 0,79$ (FNKV) $T = -2,824$ $p < 0,05$. Выживаемость $2,88 \pm 1,01$ по сравнению с $3,26 \pm 1,08T = -2,548$, $p < 0,05$) и социальная адаптация $1,82 \pm 0,88$ по сравнению с $2,08 \pm 0,91$ $T = -2,044$, $p = 0,05$ также показывают значительно лучшие результаты у австрийских пациентов. Это означает, что австрийские пациенты лучше справляются с повседневной жизнью, их жизнь более энергична и менее болезненна, чем у чешских пациентов. С другой стороны, никаких достоверных различий между двумя группами пациентов (шкала SF-36 и FIQL) не обнаружено. Все пациенты в обеих странах испытывали физическую и эмоциональную, следовательно, социальную неудовлетворенность.

Что касается половой функции, то она была серьезно нарушена, хотя у пациентов из Чехии результаты были несколько лучше, чем у пациентов из Австрии, но эти различия не были статистически значимыми ($T = -1,759$). Показатели шкалы «Недержание мочи» одинаковы для обеих групп пациентов; пациенты MUG имеют несколько лучшие результаты, но разница статистически недостоверна ($T = 1,328$).

В период с 1993 по 2004 годы уровень смертности от колоректального рака и рака прямой кишки значительно уменьшился в Центральной Европе, но не в странах Восточной Европы [11]. С 2004 года наблюдается явное снижение, особенно в Чехии [11], в то время как снижение в Австрии было непрерывным на протяжении более двух десятилетий [5].

Увеличение ожидаемой продолжительности жизни в последние 20 лет как в Чешской Республике, так и Австрии, возможно, будет связано с более

высоким уровнем жизни и прогрессом в области здравоохранения в единой Европе.

Увеличение расходов на здравоохранение, а также возможность обнаружения опухоли на начальной стадии благодаря строгому эндоскопическому наблюдению позволяют в настоящее время улучшить качество жизни пациентов. В Австрии за последние 20 лет процент населения, проходящего профилактические медицинские осмотры, увеличился почти в два раза с 5,6% до 10,9% [12]. Таким образом, представляется целесообразным вкладывать больше средств в области профилактической медицины с целью снижения затрат на дорогостоящее лечение распространенного колоректального рака. [13].

ВЫВОД

Все представленные данные подтверждают положительную динамику. В обеих странах, чем больше средств вкладывается в здравоохранение, тем ниже уровень смертности и выше продолжительности жизни. Можно ожидать, что дальнейшее улучшение в лечении ректального рака будут способствовать положительной динамике в отношении качества жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Pew Global Research Center: <http://pewglobal.org/2009/11/02/end-of-communism-cheered-but-now-with-more-reservations/> (access April 2010).
- 2 Ware J.E., Jr., Sherbourne C.D. The MOS 36 Item Short Form Health Survey (SF 36). 1. Conceptual framework and item selection. Medical. Care. 1992; 30: 473-483.
- 3 Rockwood T.H., Church J.M., Fleshman J.W., et al. (2000) «Fecal Incontinence Quality of Life Scale: quality of life instrument for patients with fecal incontinence» Dis Colon Rectum. 43: 9-17.
- 4 World Health Organisation Mortality Database <http://apps.who.int/whosis/database/mort/table1.cfm> (access June 2010).
- 5 European mortality database <http://data.euro.who.int/hfamdb/> (Access June 2010).
- 6 WHO Global Health Observatory <http://apps.who.int/ghodata/?vid=720> (Access June 2010).
- 7 EUROSTAT <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/population/data/database>.
- 8 Die Gesundheitssysteme in Deutschland, Polen und der Tschechischen Republik Reinhard Busse, Prof. Dr. med. MPH; http://www.mig.tu-berlin.de/fileadmin/a38331600/2003.lectures/Dresden_2003.01.25_RB.pdf (Access July 2010).
- 9 The Lancet Volume 375, Issue 9710, 16 January 2010-22 January 2010, Pages 179-181
- 10 The Lancet Volume 375, Issue 9731 12 June 2010-18 June 2010, Pages 2071-2072.
- 11 Benko G., Pfeifer J. Das Kolorektale Karzinom im Wandel der Zeit. Coloproctology 2009; 31: 283-90.
- 12 Statistik Austria, http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/gesundheitsversorgung/gesundheitsvorsorge/index.html (Access July 2010).
- 13 Expertenkommentare: Kommentierung Prof. Dr. Max Reinshagen, Städt. Klinikum Braunschweig gGmbH, Medizinische Klinik I, 38126 Braunschweig, Kommentar: 25.11.09 <http://www.lebensblicke.de/fachkreise/kommentare/coloproctology-31-2009-283-290-reinshagen.pdf>.

РОЛЬ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ ПИТАНИЯ В ВОЗНИКНОВЕНИИ РАКА ЖЕЛУДКА У ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДОВ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

Ассесорова Ю.Ю., Киреев Г.В.

Республиканский онкологический научный центр МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан

Контакты: Ассесорова Ю.Ю. E-mail: yuliana-as@mail.ru

Целью работы явилось изучение и оценка значимости ряда особенностей и факторов питания в возникновении рака желудка у городских жителей Республики Узбекистан.

Исследования в области эпидемиологии рака показали, что причиной 35% всех злокачественных новообразований являются особенности питания. Однако имеющаяся в литературе информация о роли отдельных факторов питания в возникновении злокачественных новообразований является далеко не полной и не охватывает многие аспекты данной проблемы.

Результаты. Показано, что до 38% изученных факторов питания могут рассматриваться в качестве кофакторов риска рака желудка. Наиболее значимыми из них являются употребление сырой водопроводной воды (ОР – 11,5), использование артезианской воды (ОР – 10,5), широкое употребление нерафинированных растительных масел (ОР – до 4,7), маргарина (ОР – 10,0), животных жиров (ОР – 3,6), поваренной соли (ОР – 3,3), ежедневное употребление мясных бульонов (ОР – 10,2), отсутствие в рационе молока (ОР – 15,5). Устранение указанных факторов в 2,1–14,5 раза снижает степень риска возникновения рака желудка.

Ключевые слова: рак желудка, факторы питания, относительный риск, снижение относительного риска.

Канцерогенез – многостадийный процесс, который является итогом воздействия на человека как экзогенных (факторы окружающей среды и образа жизни), так и эндогенных (генетических, гормональных, иммунологических) факторов [1]. В настоящее время в мире проводят большое число эпидемиологических исследований, ставящих своей целью оценку роли различных факторов риска в развитии злокачественных новообразований (ЗН) [2].

Исследования в области эпидемиологии рака показали, что причиной 35% всех ЗН являются особенности питания [1, 5]. Однако имеющаяся в литературе информация о значимости отдельных факторов питания для возникновения злокачественных новообразований не охватывает многие аспекты данной проблемы.

Целью настоящей работы явилось изучение и оценка значимости ряда особенностей и факторов питания для возникновения рака желудка у городских жителей Республики Узбекистан (РУз).

THE ROLE OF SEVERAL NUTRITIONAL FACTORS IN CAUSING GASTRIC CANCER IN CITY-DWELLERS OF UZBEKISTAN

Assesorova Yu.Yu., Kireev G.V.

Uzbekistan Republic oncological research center, The director, doctor of medical sciences S.N. Navruzov, Tashkent, Uzbekistan

Contact: Assesorova Yu.Yu. E-mail: yuliana-as@mail.ru

The objective: to study the role of several nutritional factors in causing of gastric cancer in city-dwellers of Uzbekistan.

Carcinogenesis is multi-stage process which is the result of influence both exogenous factors (environmental and life style) and endogenous factors (genetic, hormonal, immune) on human being. Epidemiological studies for assessing the role of different risk factors in causing malignant tumors are being performed all over the world.

Epidemiological cancer studies showed that the cause of 35% of all malignant tumors were dietary habits. However there is a lack of literature data on the importance of certain nutritional factors in causing malignant cancer.

Results: The study of role of nutritional factors in causing of gastric cancer in city-dwellers of Uzbekistan was performed. Up to 38% of factors were determined as risk co-factors for gastric cancer. The most important factors were intake of un-boiled water (RR-11.5), artesian water (RR-10.5), unrefined vegetable oil (RR-up too 4.7), margarine (RR-10.0), animal fats (RR-3.6), dietary salt (RR-3.3), daily intake of meat-broth (RR-10.2), absence of milk in ration (RR-15.5). The elimination of these factors reduces the risk of gastric cancer in 2.1–14.5 times.

Key words: gastric cancer, nutritional factor, relative risk, reduction of relative risk.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились проживающие в городах РУз больные раком желудка, зарегистрированные в РОНЦ Минздрава РУз или в Ташкентском городском онкологическом диспансере. На первом этапе проведен сбор данных путем опроса-интервьюирования больных раком желудка (основная группа – 67 человек) и лиц без онкопатологии (контрольная группа – 59 человек). Репрезентативная группа больных составила 10% от генеральной совокупности – общего числа больных-горожан с изучаемой формой патологии, впервые регистрируемых за 1 год (среднее число ежегодно регистрируемых случаев заболевания раком желудка среди городских жителей Узбекистана – $655,5 \pm 17,6$ человек). Интервьюирование провели по специально разработанной анкете, включающей, в частности, характеристику 26 факторов питания (96 градаций факторов).

Анализ значимости факторов риска рака желудка проведен на основе сравнительной оценки ча-

стоты воздействия факторов питания на организм больных ЗН желудка и лиц без онкопатологии. При обработке данных рассчитывали экстенсивные показатели, характеризующие частоту воздействия изучаемых градаций факторов на респондентов соответствующих групп. Показатели рисков (относительный риск, снижение относительного риска) рассчитывали на основе четырехпольных таблиц по Р. Флетчер с соавт. [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из числа лиц основной группы 45,9% составили мужчины и 54,1% – женщины; в группе контроля соотношение респондентов по полу было аналогичным (44,1 и 55,9% соответственно). Основная часть опрошенных (57-78%) – узбеки. Большую часть респондентов (73-74%) составили лица в возрасте от 40 до 70 лет.

В соответствии с методикой оценки рисков статистически значимыми являются такие показатели сравниваемых групп, при которых величина относительного риска (ОР) превышает 1. Результаты проведенного исследования показали, что из 96 градаций изученных факторов для 60 градаций показатель ОР не превысил или был близок к 1. Для 24 градаций значение ОР находилось в пределах 1,1-3,0, что говорит об определенной значимости данных факторов в возникновении рака желудка. Вместе с тем, для 12 градаций величина ОР колебалась от 3,1 до 15,5, что свидетельствует о высокой значимости этих особенностей питания как факторов риска возникновения и развития изучаемой формы онкопатологии (таблица).

При выборе потенциальных факторов риска рака желудка среди городских жителей РУз мы руководствовались известными в литературе данными о влиянии потребления ряда продуктов питания (мясо, молоко, овощи, фрукты, жиры, поваренная соль и др.) на возникновение онкопатологии, однако существенно расширили список с учетом особенностей традиционной кухни, возможных вкусовых предпочтений и материальных возможностей. Кроме того, нами изучались не только факт потребления, но также и количественная оценка частоты потребления определенных продуктов питания.

В настоящем исследовании было показано, что ряд известных факторов риска рака желудка [1] сохраняет свою значимость и для населения РУз. Так, выявлена достоверная значимость для возникновения изучаемой онкопатологии таких факторов питания, как мясо и мясопродукты, яйца, повышенное потребление поваренной соли и животных жиров. При этом было показано, что большое значение в канцерогенезе имеет ежедневное потребление яиц (ОР=1,77), мяса (ОР=1,83), копченых мясопродуктов (ОР=3,12). Ежедневное питание супами, сваренными на основе мясного бульона, увеличивает относительный риск возникновения рака желудка до 10,20.

При этом употребление вышеперечисленных продуктов питания не чаще нескольких раз в неделю не вызывает увеличения риска возникновения изучаемой формы онкопатологии (ОР<1). Данный факт, по-видимому, объясняется тем, что эти продукты являются источниками аминов, которые нитрифицируясь в желудочно-кишечном тракте при определенных условиях, образуют канцерогенные N-нитрозосоединения (N-НС) [3].

Нами подтверждено значение для канцерогенеза таких факторов риска, как повышенное потребление поваренной соли (ОР=3,33) и животных жиров (ОР=3,58), однако не обнаружено описываемого в литературе протекторного в отношении рака желудка действия клетчатки и витаминов, содержащихся в сырых овощах. Напротив, установлено, что ежедневное присутствие в рационе сырых овощей увеличивает риск возникновения рака желудка (ОР=1,43), а ежедневное употребление соков увеличивает относительный риск до 1,96. Одно из вероятных объяснений данному факту – присутствие в продуктах растительного происхождения нитратов, которые являются предшественниками канцерогенных N-НС. Нитраты накапливаются в овощах при ненормированном и неконтролируемом внесении минеральных удобрений при возделывании сельскохозяйственных культур. Однако употребление указанных продуктов 1-2 раза в неделю и реже не повышает риск возникновения онкопатологии желудка (ОР<1).

Одним из наиболее значимых факторов риска рака желудка можно назвать употребление для питья и приготовления пищи воды из артезианских скважин или колодцев (ОР=10,5). Известно, что в артезианской воде содержится больше предшественников N-НС, чем в водопроводной воде, проходящей определенную степень очистки [3]. Вероятным влиянием нитратов и других предшественников N-НС объясняется и существенное повышение риска рака желудка при предпочтительном употреблении для утоления жажды сырой водопроводной воды (ОР=11,5). Ее кипячение снижает риск возникновения исследуемой онкопатологии до 1,30, несмотря на то, что само кипячение не является методом химической очистки питьевой воды.

Результаты исследования показали, что помимо жиров животного происхождения существенную роль в возникновении рака желудка играет использование в приготовлении пищи нерафинированных или подвергнутых примитивным способам рафинирования (прокаливание) растительных масел. Так, приоритетное употребление нерафинированного подсолнечного масла повышает значение относительного риска до 4,60, а употребление нерафинированного хлопкового масла – до 4,75, тогда как при использовании рафинированного хлопкового масла величина ОР составляет лишь 1,31, а использование рафинированного подсолнечного

Таблица 1

Роль факторов питания в возникновении рака желудка у городских жителей Республики Узбекистан

Факторы и наиболее значимые градации факторов	Основная группа, n=100		Контрольная группа, n=100		ОР	СОР
	A _{осн} (%)	AP _{осн}	A _к (%)	AP _к		
Для питья и приготовления пищи используется вода:						
– из арт.скважины (колодца)	21,3	0,21	1,6	0,02	10,50	9,50
– бутилированная	3,3	0,03	1,6	0,02	1,50	0,50
Питьевые предпочтения:						
– сырая водопроводная вода	22,9	0,23	1,6	0,02	11,50	10,50
– кипяченая водопроводная вода	60,6	0,61	47,4	0,47	1,30	0,30
– минеральная вода без газа	18,0	0,18	11,9	0,12	1,50	0,50
– минеральная газированная вода	13,1	0,13	10,2	0,10	1,30	0,30
– черный чай	65,6	0,66	57,6	0,58	1,14	0,14
Частота употребления блюд, на основе мяса, птицы или рыбы:						
– каждый день	83,6	0,84	45,8	0,46	1,83	0,83
Частота употребления копченых мясо- и рыбопродуктов:						
– каждый день	24,6	0,25	8,4	0,08	3,12	2,12
Частота употребления молока и блюд на основе молока:						
– никогда или несколько раз в год	31,1	0,31	1,6	0,02	15,5	14,50
Частота употребления кисломолочных продуктов:						
– никогда или несколько раз в год	9,8	0,10	3,4	0,03	3,33	2,33
– 3-7 раз в неделю	67,2	0,67	52,5	0,52	1,29	0,28
Частота употребления яиц:						
– 3-7 раз в неделю	52,5	0,53	30,5	0,30	1,77	0,77
Частота употребления супов:						
– каждый день	73,8	0,74	11,9	0,12	6,17	5,17
Частота употребления супов без заправки (на бульоне):						
– каждый день	50,8	0,51	5,1	0,05	10,2	9,20
Соленость блюд:						
– сильно соленые	9,8	0,10	3,4	0,03	3,33	2,33
Масло, используемое для приготовления пищи:						
– хлопковое нерафинированное	37,7	0,38	8,4	0,08	4,75	3,75
– хлопковое рафинированное	37,7	0,38	28,8	0,29	1,31	0,31
– подсолнечное нерафинированное	22,9	0,23	5,1	0,05	4,60	3,60
– животные жиры	42,6	0,43	11,9	0,12	3,58	2,58
– маргарин	19,7	0,20	1,6	0,02	10,0	9,0
Какой чай предпочитается:						
– горячий	57,4	0,57	49,1	0,49	1,16	0,16
Кофе по способу приготовления:						
– растворимый	72,1	0,72	67,8	0,68	1,06	0,06
Горячая пища:						
– 1-2 раза в день	80,3	0,80	74,6	0,75	1,07	0,07
Питание всухомятку:						
– несколько раз в месяц и реже	45,9	0,46	40,7	0,41	1,12	0,12
– каждый день	36,1	0,36	20,3	0,20	1,80	0,80
Частота употребления специй:						
– никогда	4,9	0,05	1,6	0,02	2,5	1,5
Вид специй:						
– острый красный перец	50,8	0,51	39,0	0,39	1,31	0,31
– черный перец	83,6	0,84	69,5	0,69	1,22	0,22
– лавровый лист	14,7	0,15	8,4	0,08	1,87	0,87
Частота употребления специй для придания блюду остроты:						
– часто	41,0	0,41	37,3	0,37	1,11	0,11
Частота употребления фруктовых и овощных соков:						
– 3-7 раз в неделю	57,4	0,57	28,8	0,29	1,96	0,96
Способ приготовления (хранения) употребляемых соков:						
– консервированные (компоты)	59,0	0,59	25,4	0,25	2,36	1,36
Частота употребления свежих овощей:						
– 3-7 раз в неделю	90,2	0,90	62,7	0,63	1,43	0,43
Частота употребления маринованных овощей:						
– часто, но в основном в зимнее время	67,2	0,67	49,1	0,49	1,37	0,37
Частота употребления соленых овощей (помидоры, огурцы):						
– несколько раз в месяц и реже	52,5	0,52	42,4	0,42	1,24	0,24

AP – абсолютный риск ($AP = P/n$);ОР – относительный риск ($OP = AP_{осн}/AP_{к}$);СОР – снижение относительного риска ($СОР = (AP_{осн} - AP_{к}) / AP_{к}$).

масла вообще не повышало риска ($OP < 1$). Однако наибольшее значение относительного риска среди

различных видов пищевых жиров было установлено для маргарина ($OP = 10,0$).

Результаты проведенного исследования показали, что существенное повышение риска рака желудка наблюдается при минимальном или полном отсутствии в рационе молока (ОР=15,5) и в некоторой степени – молочных продуктов (ОР=3,3).

Особенностью, характерной для РУз, является употребление специй и приправ для приготовления традиционных блюд. Проведенное исследование показало, что риск возникновения рака желудка выше при полном отсутствии специй в употребляемых блюдах (ОР=2,5); вместе с тем, употребление специй, придающих блюдам остроту, напротив, повышает риск (ОР=1,1). Этот факт в определенной мере подтверждается тем, что среди многочисленных традиционных специй, упоминавшихся в опроснике (зира, кашнич, седона, тмин, сладкий красный перец, шафран, барбарис, чеснок, петрушка, укроп, кинза), значимое повышение риска рака желудка вызывают острый красный перец (ОР=1,3), черный перец (ОР=1,2) и лавровый лист (ОР=1,9).

Среди прочих факторов риска заслуживают внимания такие, как употребление горячей пищи (ОР=1,07), горячего черного чая (ОР=1,14–1,16), растворимого кофе (ОР=1,06), ежедневное питание сухомятку (ОР=1,80), частое употребление маринованных (ОР=1,37) и соленых (ОР=1,24) овощей.

Исходя из статистически значимых показателей факторов риска, нами рассчитана величина снижения относительного риска (СОР) каждого из этих факторов, показывающая, во сколько раз уменьшается вероятность изучаемого исхода при отсутствии фактора (таблица). Оказалось, что одними из самых значимых факторов риска являются источники предшественников канцерогенных N-НС – нитратов, нитритов, аминов. Устранение или снижение возможности химического взаимодействия различных предшественников N-НС с образованием активных канцерогенов возможно при исключении совместного употребления продуктов или блюд, богатых белком, и продуктов или воды, содержащих нитросоединения. Так, исключение из ежедневного рациона копченых мясосюпродуктов позволяет снизить риск возникновения изучаемой формы онкопатологии в 2,1 раза, исключение ежедневного употребления супов на основе мясного бульона – в 9,2 раза, исключение употребления для питья артезианской воды – в

9,5 раза, сырой воды – в 10,5 раза. Исключение использования нерафинированных сортов растительных масел снижает риск рака желудка в 3,6–3,7 раза, исключение маргарина – в 9,0 раз, снижение употребления поваренной соли – в 2,3 раза. Обязательное включение в еженедельную (но не ежедневную) диету натурального молока позволяет снизить риск возникновения рака желудка в 14,5 раза. Устранение остальных факторов снижает риск рака желудка в 0,1–1,5 раза, т. е. является не столь значимым.

ВЫВОДЫ

1. До 38% изученных градаций факторов питания имели значимость в возникновении рака желудка. Для 12 факторов величина ОР колебалась от 3,1 до 15,5, что свидетельствует об их значимой роли как факторов риска возникновения и развития рассматриваемой формы онкопатологии.

2. Наиболее высокий риск возникновения рака желудка связан с употреблением сырой водопроводной воды, использованием артезианской воды, широким употреблением нерафинированных растительных масел, маргарина, животных жиров, поваренной соли, ежедневным употреблением мясных бульонов, отсутствием в рационе молока.

3. Устранение указанных факторов в 2,1–14,5 раза снижает риск возникновения рака желудка. Для других выявленных кофакторов величина снижения относительного риска менее значима, однако эти факторы могут иметь значение при их интегрированной оценке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заридзе Д.Г. Эпидемиология, механизмы канцерогенеза и профилактика рака. Архив патологии. 2002; 64(2): 53–61.
2. Лежнин В.Л., Ползик Е.В., Казанцев В.С. и др. Комплексная оценка факторов риска заболевания раком легких у жителей г. Тулы. Вопросы онкологии. 2000; 46(5): 555–560.
3. Пономарева Л.А. Гигиенические аспекты загрязнения окружающей среды нитрозирующими соединениями и пестицидами и их роль в возникновении онкологической заболеваемости: Дис. д-ра мед. наук. Ташкент. 1991; 401.
4. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины (пер. с англ.). – М.: Медиа Сфера. 1998. 347 с.
5. World Cancer Research Fund. Food Nutrition and Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington, 1997.

НАНОТЕХНОЛОГИИ В ОНКОЛОГИИ

17 декабря 2011 г

Москва ФГБУ, МНИОИ им. П.А. Герцена Минздрава России

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВЫХ ВЕКТОРОВ НА ОСНОВЕ БТШ70 ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПЕПТИДНО-НУКЛЕОТИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ С РЕГУЛЯТОРНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Абрамов А.А.¹, Шустова О.А.², Клиникова А.В.²

¹ Москва, ИПК ФМБА

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН), Москва, Россия

Нуклеотиды с регуляторными свойствами являются одним из перспективных инструментов, используемых в настоящее время для создания противоопухолевых препаратов. Действие одного из видов нуклеотидов – миРНК, основано на феномене РНК-интерференции, заключающийся в способности двухцепочечных молекул миРНК прицельно блокировать синтез определенных белков. Несмотря на то, что миРНК считается перспективным подходом к разработке новых лекарственных препаратов, доставка терапевтических миРНК в клетки-мишени является сложной задачей. РНК быстро элиминируются, и для обеспечения эффективности необходимо создание нетоксичных частиц-носителей, способных доставить миРНК в клетки-мишени, не вызывая при этом развития иммунного ответа. Одной из транспортных систем, которая может быть использована для доставки миРНК, является белок теплового шока 70 кДа (БТШ70). Это связано с особенностями структуры БТШ70, обеспечивающей данным протеинам способность образовывать прочные комплексы с белками, пептидами и другими молекулами, а также проникать через клеточные мембраны. Существенно, что транспортные свойства БТШ70 реализуются как в случае комплексов, так и конъюгатов этих белков с различными типами молекул. Очень важным для рассматриваемой проблемы является также высокий уровень консервативности БТШ70, что обуславливает практически полное отсутствие иммуногенности у этой молекулы. В наших исследованиях было показано, что существенное количество БТШ70, достаточное для получения и последующего тестирования конъюгированного препарата, может быть выделено, если при культивировании клеток различных тканей обеспечивается их продолжительная жизнеспособность и проводится гормональное стимулирование синтеза БТШ70. Для выделения белка мы используем модифицированный метод аффинной хроматографии БТШ70 с помощью АТФ-агарозы. Следующим шагом является моделирование различных вариантов конструирования пептидно-нуклеотидных комплексов с белковой частью, состоящей из БТШ70. Созданные компьютерные модели позволяют сделать предположение о прочности и конформационной подвижности некоторых вариантов связей БТШ70-миРНК в составе пептидно-нуклеотидных наноконструкций, способствующей проникновению этих комплексов в клетки-мишени. Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать предположение о возможной перспективности использования БТШ70 как белкового вектора для доставки миРНК молекул в составе пептидно-нуклеотидных комплексов, наряду с другими имеющимися сегодня системами доставки миРНК.

НАНОДИСПЕРСНЫЕ ПОРОШКИ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Баринов С.М., Комлев В.С., Фадеева И.В.,
Бакунова Н.В., Фомин А.С.

Учреждение Российской академии наук Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва, Россия

Фосфаты кальция применяют в медицине для лечения поврежденных костных тканей благодаря их химическому и фазовому подобию неорганической составляющей костной ткани. В последнее время разработан регенеративный подход, в рамках которого акцент делается не на механическое замещение биоматериалом костной ткани, а на регенерацию последней в месте дефекта [1,2]. Биоматериалу в таком случае отводят роль матрикса для роста костной ткани de novo и актив-

ного источника необходимых для построения костной ткани элементов, лишь первоначально осуществляющего опорную функцию. В рамках регенерационного подхода от биоматериалов требуются, прежде всего, увеличение скорости биодеградации материала в организме, для согласования ее со скоростью образования новой костной ткани [1]. В связи с этим, ведется поиск альтернативы чистому гидроксипатиту (ГА), который имеет низкую скорость резорбции в тканях организма. Более резорбируемым материалом является трикальцийфосфат (ТКФ), химические и биологические свойства которого могут быть модифицированы замещением ионов кальция другими катионами, в частности катионами физиологически важных элементов.

Исследованы две технологии синтеза нанодисперсных серебро-, цинк-, медьзамещенных трикальцийфосфатов – осаждение из растворов солей и гетерофазное взаимодействие с использованием механической активации. Полученные соединения исследованы методами рентгенофазового анализа, ИК спектроскопии, электронной микроскопии и элементного анализа. Установлено, что все полученные порошки являются однофазными и имеют структуру β -трикальцийфосфата. Ионы серебра, цинка и меди входят в структуру β -ТКФ. Установлено, что размер частиц катионзамещенных β -ТКФ зависит от природы и количества иона-заместителя, а также от метода синтеза. Порошки, полученные осаждением, имеют существенно меньший размер по сравнению с порошками, полученными гетерофазным синтезом.

Исследована растворимость материалов в изотоническом растворе, выявлено, что насыщение изотонического раствора ионами кальция для катионзамещенных ТКФ наступает через 14 суток, в то время как для ГА – через 60 суток. Кроме того, концентрация ионов кальция в изотоническом растворе, содержащем ТКФ замещенные, вдвое выше по сравнению с ГА. Таким образом, полученные порошки ТКФ замещенных имеют более высокую растворимость по сравнению с ГА и могут быть использованы для изготовления пористых матриксов, предназначенных для инженерии костных тканей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант РФФИ 11-03-12083-офи_м.

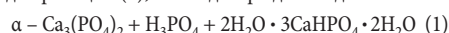
1. Hench L.L., Polak J.M. Third-generation biomedical materials. Science. 2002; 295: 1014-1017.
2. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005 – 204 с.

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ КАЛЬЦИЙФОСФАТНЫЕ ЦЕМЕНТЫ НА ОСНОВЕ А- И В-ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ

Баринов С.М., Комлев В.С., Фадеева И.В., Кряжков И.И.,
Макарова А.Б., Тетерина А.И., Тютькова Ю.Б.

Учреждение Российской академии наук Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва, Россия

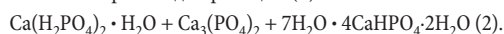
В настоящей работе приведены результаты по разработке пористых кальцийфосфатных цементов на основе α -трикальцийфосфата (α -ТКФ) и β -трикальцийфосфата (β -ТКФ) с контролируемой скоростью биодеградации. Трикальцийфосфат получали осаждением из растворов нитрата кальция и двухзамещенного фосфата аммония. Для кристаллизации α -ТКФ полученные в результате синтеза порошки подвергали термической обработке при 1300°C в течение 2 часов. Для получения β -ТКФ температуру термообработки понижали до 800°C. В качестве затворяющих жидкостей использовали раствор фосфорной кислоты, содержащей соли цинка и алюминия (ЗЖ1) и раствор фосфатов магния в фосфорной кислоте (ЗЖ2). При твердении цемента в случае α -ТКФ происходит реакция (1), что подтверждается данными РФА:



Время схватывания – 3-4 мин, время твердения – до 15 мин. рН цемента увеличивается по мере протекания реакции между порошком и жидкостью, достигая через 15 мин нейтральных значений рН 6,9-7,4. Прочность цементов зависит от вида ЗЖ: для ЗЖ1 – 30 МПа, для ЗЖ2 – 5-7 МПа. Структура цементов различается в зависимости от состава порошка – при введении в состав цементного порошка карбона-

тов калия или кальция формируются взаимосвязанные поры размером 20-30 мкм, применение в качестве порообразователя карбоната аммония увеличивает размер пор до 100 мкм. Прочность такого цемента снижается до 2,5 МПа.

В случае использования β -ТКФ и ЗЖ2 в процессе твердения в цементном тесте происходит реакция (2):



Время схватывания – до 3 мин. Введение в состав цементного порошка карбоната кальция позволяет получить цемент, имеющий нейтральную реакцию (рН=7,0-7,4). Прочность цемента при этом снижается до 1 МПа.

Материалы могут найти применение при замещении или регенерации дефектов костных тканей, в частности, в онкологии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 11-03-12127-офи_м.

РПАН-ЛФ – ПРЕПАРАТ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ ПСЕВДОАДЕНОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ: ФАРМАКОДИНАМИКА И ФАРМАКОКИНЕТИКА

Безбородова О.А.¹, Немцова Е.Р.¹, Кармакова Т.А.¹, Якубовская Р.И.¹, Тутьихина И.Л.², Шмаров М.М.², Логунов Д.Ю.², Народицкий Б.С.²

¹ ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена Минздравсоцразвития России», Москва

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Минздравсоцразвития РФ, Москва, Россия

На основе псевдоаденовирусных частиц, экспрессирующих ген лактоферрина (Лф) человека, разработан отечественный препарат нового поколения РПАН-Лф (рекомбинантные псевдоаденовирусные наночастицы, несущие ген Лф человека), предназначенный для профилактики и купирования интоксикаций различной этиологии.

В экспериментах *in vitro* показано, что РПАН-Лф продуцирует в культуре клеток 293 рекомбинантный Лф человека с молекулярной массой, равной 76,0±0,5 кДа, с антигенными, антибактериальными и антиоксидантными свойствами, аналогичными таковым у природного Лф человека, выделенного из донорского женского молока (препарат «Лапрот»).

В экспериментах *in vivo* на интактных мышах показано, что РПАН-Лф, при его однократном внутривенном введении, осуществляет доставку гена Лф в организм животного, обеспечивая высокий уровень экспрессии рекомбинантного белка в течение 30-ти суток. По данным иммуногистохимического исследования рекомбинантный Лф человека после введения РПАН-Лф, секретируется гепатоцитами и поступает в кровотоки через систему венозных сосудов печени. При однократном введении РПАН-Лф в дозе 4,3x10¹¹ частиц/м² максимальная концентрация рекомбинантного Лф человека в крови животных поддерживается в течение 3-х дней, в отличие от нативного Лф человека в составе препарата «Лапрот», который элиминируется из организма в течение 3-х часов. Показатель времени полувыведения рекомбинантного Лф превышает таковое в 105 раз нативного Лф при введении препарата «Лапрот» и составляет 8,4 и 0,08 суток, соответственно, что характеризует значительную пролонгацию препарата в кровотоке.

В экспериментах *in vivo* определена эффективность РПАН-Лф в качестве детоксицирующего агента, которая выражалась в снижении летальности, в значительном уменьшении степени выраженности и длительности клинических проявлений тяжелой экзогенной интоксикации, вызванных введением ксенобиотиков, а также в сохранении функциональной активности печени и почек по данным биохимического анализа крови.

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «НТФАРМА».

НОВЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ЦИСПЛАТИНА (ПЛАТИЗИД)

Будынина Е.М., Тамм М.Е., Кондаков С.Э., Мельников М.Я.

Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, НОЦ «Химическая физика биохимических

и биологических процессов», Москва, Россия

Поиск новых водорастворимых соединений платины, обладающих противоопухолевой активностью, наряду с поиском новых транспортных форм наноразмерного диапазона для известных фармацевтических препаратов является актуальной задачей фармацевтической химии [1]. Мы предположили, что перспективными для разработки новых противоопухолевых лекарственных средств являются исследования в области синтеза новых и модификации известных препаратов на основе комплексных соединений платины и биотропного лиганда, содержащего в своей структуре пиридиновый фрагмент.

Используя предложенный подход, было синтезировано новое комплексное соединение цисплатина (цис-диаминдихлорплатина) формулы: Pt(NH₂)₂Cl₂•2L, где L=INH (изониазид, гидразид изоникотиновой кислоты – используемый противотуберкулезный препарат), названное нами платизид.

Разработанный препарат (платизид) сохраняет свою активность для всех опухолевых процессов, где для лечения применяется цисплатин, но отличается пониженной токсичностью и высокой растворимостью, что облегчает его использование и позволяет отказаться от стадии лиофилизации в процессе получения готовой лекарственной формы.

1. De Pascali S.A. et all New water-soluble platinum(II) phenanthroline complexes tested as cisplatin analogues: First-time comparison of cytotoxic activity between analogous four- and five-coordinate species. Dalton Trans. 2006; 42: 5077-87.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «КОЛТЕКС-ГЕЛЬ-ДНК» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

Вельшер Л.З., Демидова Л.В., Коробкова Л.И., Коробкова А.Ю.

Кафедра онкологии и лучевой терапии МГМСУ, Москва, Россия

Заболеемость раком шейки матки в России составляет 9.3 на 100 тыс. населения, а смертность 4.9 на 100 тыс. населения. Последние десятилетия отмечен рост заболееваемости среди молодых женщин. Ведущим методом лечения больных раком шейки матки является комплексное лечение, важным компонентом которого является лучевая терапия. У 40% пациентов развиваются лучевые реакции со стороны влагалища, мочевого пузыря и прямой кишки, что ведет к вынужденным перерывам в лечении и, как следствие, к ухудшению его результатов. Разработка более эффективных препаратов для профилактики и лечения лучевых реакций и осложнений является крайне важной медико-социальной задачей. Таким препаратом является российский гидрогелевый «Колтекс-гель-ДНК», представляющий собой лечебную композицию дерината в альгинате натрия.

Цель. Изучить эффективность использования российского «Колтекс-гель-ДНК» для местного применения, обеспечить непрерывность курса лучевой терапии за счет снижения количества и степени выраженности лучевых реакций путем применения нового гидрогелевого препарата.

Материалы и методы. Применение гидрогелевого «Колтекс-гель-ДНК» для профилактики и лечения лучевых реакций со стороны слизистых оболочек влагалища, прямой кишки и мочевого пузыря при проведении лучевой терапии по поводу рака шейки матки. Оценка эффективности будет проведена по шкале RTOG по степени интенсивности.

Результаты и обсуждение. В отделении радиологии ЦКБ №2 им. Семашко, отделе лучевой терапии ФГУ «МНИОН им. Герцена» 40 женщинам в возрасте от 26-70 лет, средний возраст составил 49,5 лет, проводилась лучевая терапия с использованием «Колтекс-гель-ДНК» с первых дней облучения. У всех диагноз был подтвержден при гистологическом исследовании и соответствовал Ib-IIIb стадиям. Лучевые реакции по шкале RTOG по степени интенсивности выявлены 1-2 степени. Это позволило произвести лечение без перерыва, что привело к уменьшению пребывания больных в стационаре по сравнению со стандартными методами профилактики и лечения лучевых реакции.

Выводы. «Колтекс-гель-ДНК» может быть использован в практическом здравоохранении для лечения и профилактики лучевых реакций и осложнений при использовании лучевой терапии для лечения больных раком шейки матки.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПОЧКИ.

Вельшер Л.З., Стаханов М.Л., Тарасова Л.Б., Русанова А.Г., Горчак, Васильева О.А.

Кафедра онкологии и лучевой терапии МГМСУ.

Онкологический центр ОАО РЖД.

Кафедра патологической анатомии лечебного факультета МГМСУ.

Кафедра патологической физиологии стоматологического факультета МГМСУ, Москва, Россия

Введение. С целью определения эффективности использования лазерного излучения длиной волны 970 нм, генерируемого аппаратом ЛСП «ИРЭ-Полус» модели ЛСП-0,97/10, нами проведено экспериментальное исследование. Цель исследования: сравнительный анализ морфологических изменений тканей почки при ее лазерной и традиционной резекции. Материалы и методы. На базе кафедры патофизиологии стоматологического факультета МГМСУ воспроизведен эксперимент на 100 половозрелых крысах-самцах линии Вистар. В эксперименте участвовало 2 группы животных. 50 животным первой группы выполнена резекция почки излучением длиной волны 970 нм лазерного аппарата ЛСП «ИРЭ-Полус» модели ЛСП-0,97/10. 50 животным второй группы выполнена стандартная резекция почки. Гистологическое исследование осуществляли на базе кафедры патологической анатомии лечебного факультета МГМСУ после последовательного выведения животных обеих групп из эксперимента: через 30 мин. после выполнения резекции, а также на 2,7,16,24,31,40 сутки. Результаты исследования. В результате исследования гистопрепаратов ткани почки в случае лазерной резекции выявлены три зоны повреждения: 1) зона тотальной деструкции, протяженностью 0,3-0,7 мм, 2) зона реактивно-деструктивных изменений протяженностью 0,8-2,3 мм, 3) переходная зона, с незначительной сосудистой реакцией. На 2-е сутки, выделенные 1-я и 2-я зоны, сохраняют прежнюю толщину, без воспалительной инфильтрации, тромбоз сосудов микроциркуляторного русла. К 7 суткам отмечено уменьшение размеров очагов некроза с формированием соединительно-тканых волокон. На 16-е сутки очаги некроза заместились соединительно-ткаными волокнами. На 24-е сутки на отдельных участках сформировались тонкостенные микро-сосуды, а на 31-е сутки отмечено формирование «нежного» рубца без деформации органа. Морфологические изменения почки после традиционной резекции характеризуются: формированием обширных кровоизлияний и тромбоза сосудов микроциркуляторного русла, а так же развитием ишемических инфарктов, активацией пролиферации фибробластов ко 2-м суткам эксперимента. К 7-м суткам отмечено усиление склеротических процессов, наличие выраженной лейкоцитарной инфильтрации. Развитие грубых соединительно-тканых волокон отмечено к 16-м, 24-м суткам эксперимента и формирование грубого рубца на 31-е, 40-е сутки. Заключение. Сравнительный анализ результатов гистологического исследования показал, что воздействие высокоэнергетическим лазерным излучением длиной волны 970 нм на паренхиму почки может являться перспективным для применения в клинической практике.

ПРИМЕНЕНИЕ ЛАЗЕРНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Вельшер Л.З., Стаханов М.Л., Цалко С.Э., Решетов Д.Н.

Онкологический центр ОАО «Российские железные дороги»,

Кафедра онкологии и лучевой терапии МГМСУ, Москва

Цель исследования. Оценить диагностическую значимость лазерного флуоресцентного исследования в дифференциальной диагностике различных опухолей. Материалы и методы. Оценку точности флуоресцентной диагностики осуществляли путем сравнения результатов лазерного флуоресцентного и морфологического исследований пигментных и беспигментных опухолей кожи, опухолей щитовидной железы. Исследовали 359 пигментных и беспигментных опухолей кожи различной локализации, а также 54 опухоли щитовидной железы. Для реализации метода лазерного флуоресцентного исследования использовали аппаратный комплекс с лазером красного диапазона спектра длиной волны 635 нм. Удаление опухолей осуществляли по общепринятым методикам. Для определения злокачественного или доброкачественного характера

новообразования мы производили сравнительный анализ двухмерных лазер-индуцированных флуоресцентных изображений опухолей: непосредственно опухолей кожи и операционных макропрепаратов опухолей щитовидной железы. Результаты. При морфологическом исследовании опухолей кожи 69 опухолей оказались злокачественными (рак и меланома кожи), 290 – доброкачественные (пигментные невусы, фибромы и пр.), 20 опухолей щитовидной железы имели злокачественную природу, 34 были доброкачественными. При лазерном флуоресцентном исследовании из 69 наблюдений злокачественных опухолей кожи характер образования правильно определен в 64 (92,75%) в 5 наблюдениях получен ложноотрицательный результат (7,25%). Из 290 доброкачественных опухолей кожи правильно определен характер опухоли в 279 наблюдениях (96,2%), ложноположительный результат получен в 11 наблюдениях (3,8%).

Из 20 раковых опухолей щитовидной железы при лазерном флуоресцентном исследовании правильно характер образования установлен в 19 наблюдениях (95%), в 1 наблюдении (5%) получен ложноотрицательный результат. Ложноположительный результат при исследовании 34 доброкачественных опухолей щитовидной железы получен в 4 наблюдениях (11,8%).

РЕЗУЛЬТАТЫ БИОЭЛЕКТРОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРОСТАТЫ

Вельшер Л.З., Стаханов М.Л., Юдина Н.В., Горчак Ю.Ю.

Кафедра онкологии и лучевой терапии МГМСУ,

Онкологический центр ОАО РЖД, Москва, Россия

Введение. Подавляющее число больных раком простаты на момент первичной диагностики находятся в пожилом или старческом возрасте. В связи с этим их состояние, как правило,отягощено множеством сопутствующих заболеваний, весьма осложняющих выбор и проведение рационального и адекватного лечения. На этом фоне перспективным представляется метод биоэлектротерапии.

Цель исследования: Оценить эффективность биоэлектротерапии больных раком простаты.

Материалы и методы. За период с 2005 по 2011 гг. на кафедре онкологии и лучевой терапии МГМСУ, на базе онкоурологического отделения Онкологического центра ОАО РЖД биоэлектротерапия выполнена 57 пациентам в возрасте от 55 до 86 лет по поводу рака простаты. Традиционное радикальное лечение этим больным в силу различных объективных причин было не показано. У всех 57 пациентов опухоль соответствовала Т3а-б N0 M0; показатели ПСА 10-20 нг/мл, IPSS 8-9 баллов, максимальная скорость истечения мочи 5,4-7,2 мл/сек. Однако никто из них не нуждался в выполнении предварительной цистостомии.

Лечение проводили на аппарата ВЕТ-7 (производство Германии). Курс биоэлектротерапии состоял из 5-12 сеансов лечения. Интервалы между сеансами составляли от 2 до 6 недель, их длительность у каждого больного определяли индивидуально.

Результаты. После первого сеанса все 57 больных отметили улучшение т. н. «качества жизни», что в первую очередь выразилось в увеличении интервалов между актами мочеиспускания и существенно усилии напора струи. По данным лабораторно-инструментального обследования этих больных отмечено снижение показателей ПСА, уменьшение опухолевого узла и снижение интенсивности его кровоснабжения, а также увеличение максимальной скорости истечения мочи и значительное уменьшение остаточного объема мочи.

Из 19 больных, пролеченных 5 лет назад, 2 умерли. Из них один от рака желудка, а другой – при явлениях генерализации рака простаты на 6-ом году после окончания биоэлектротерапии. Выпали из наблюдения по неизвестным причинам 7 из 19 больных этой группы. За остальными 10 пациентами до настоящего времени осуществляется дальнейшее динамическое наблюдение. Признаков опухолевого поражения простаты у них нет. Из 38 больных, которым биоэлектротерапия проведена менее чем 5 лет спустя, признаков продолжения и генерализации заболевания не установлено. При этом у 21 пациента зафиксирована регрессия болезни в виде уменьшения опухоли и снижения ее васкуляризации, а в 17 наблюдениях, после проведения одного - трех сеансов биоэлектротерапии отмечена четкая стабилизация размеров опухоли на фоне умеренного снижения показателей ПСА.

Выводы. Биоэлектротерапия показала определенную эффективность лечения больных раком простаты, а при отсутствии осложнений и с учетом простоты выполнения сеанса вполне может быть признана одним из альтернативных методов лечения этой категории больных.

МЕТОД АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Волченко Н.Н., Решетов И.В.,
Славнова Е.Н., Сухарев С.С.

Московский научно-исследовательский
онкологический институт им.П.А.Герцена, Москва

Цель исследования: Разработка и усовершенствование метода цитологической диагностики опухолей и предопуховых заболеваний молочной, щитовидной железы путем применения атомно-силовой микроскопии.

Материалы и методы: В работе использовался исследовательский Атомно Силовой Микроскоп (АСМ) производства «ЗАО НТ НДТ» г.Зеленоград, Россия.

Исследовали 120 цитологических препаратов опухолей молочной и щитовидной желез, полученные методом тонкоигольной аспирационной биопсии под контролем ультразвукового исследования и соскобы с операционного материала. Исследовали 15 иммуноцитохимических препаратов рака молочной железы. Иммуноцитохимию проводили методом Ultra Vision для определения экспрессии онкобелка Her2/neu (c-erbB-2) при раке молочной железы. Все препараты исследовались с помощью обычной световой микроскопии, а затем с помощью АСМ.

Результаты: С помощью АСМ решены три задачи цитологической диагностики:

1. Разработаны объективные критерии дифференциальной диагностики между нормальными клетками и клетками рака молочной железы (РМЖ), папиллярного рака щитовидной железы (ПР ЩЖ). Подобраны объективные морфометрические показатели, имеющие дифференциально-диагностическое значение.

Молочная железа.

При проведении АСМ в клетках инвазивного протокового РМЖ отмечался грубый микрорельеф поверхности ядер, ядрышки хорошо просматриваются в виде локальных возвышений над поверхностью ядра, ядерно-цитоплазмное соотношение сдвинуто в сторону ядра. Контуры ядра и цитоплазмы неровными. Высота ядра составляет – 574 ± 143 нм. Высота цитоплазмы – 248 ± 94 нм, соотношение высоты ядра к высоте цитоплазмы составляет $2,5 \pm 1,0$. Высота ядрышек над поверхностью ядра – 156 ± 90 нм.

Методом АСМ при фиброаденоме (ФА) в клетках эпителия хорошо определялась сглаженность микрорельефа ядер. Контуры ядра и цитоплазмы были ровными. Если провести сечение клеток плоскостью, параллельной вертикальной оси, определяются высота ядра – 417 ± 89 нм и цитоплазмы – 239 ± 57 нм. Соотношение высот ядра и цитоплазмы $1,8 \pm 0,4$. Этот параметр может служить объективным критерием дифференциальной диагностики ФА и РМЖ (при раке – $2,5 \pm 1,0$ при ФА – $1,8 \pm 0,4$, $p < 0,05$).

Щитовидная железа.

При исследовании ПР ЩЖ методом АСМ обращает на себя внимание грубый микрорельеф поверхности ядер. Обнаруживаются ядрышки в виде локальных возвышений. Одним из важных диагностических признаков является обнаружение внутриядерных включений цитоплазмы (инвагинаций цитоплазмы), глубина которых 290 ± 82 нм. Следует отметить небольшое увеличение размеров ядер при ПР ЩЖ, высота цитоплазмы – 266 ± 74 нм, высота ядра – 605 ± 103 нм, высота ядрышек (над ядром) – 353 ± 216 нм. Соотношение высоты ядра к высоте цитоплазмы – $2,5 \pm 1,2$. Отношение высоты ядрышка над ядром к высоте ядра – $0,34 \pm 0,21$.

Измерения морфометрических параметров с помощью АСМ при фолликулярной аденоме щитовидной железы показали, что высота цитоплазмы 277 ± 64 нм, высота ядра – 547 ± 151 нм. Соотношение высоты ядра к высоте цитоплазмы – $2,0 \pm 0,5$. Отношение высоты ядрышка над ядром к высоте ядра – $0,63 \pm 0,43$. Значения отношения высоты ядрышка к высоте ядра отличаются при ПР ЩЖ и фолликулярной аденоме и могут служить объективными критериями дифференциальной диагностики между этими патологическими процессами (для ПР ЩЖ – $0,63 \pm 0,43$, для фолликулярной аденомы $0,34 \pm 0,21$, $p < 0,05$).

На сканах коллоидного зоба, полученных средствами АСМ, видны клетки правильной округлой формы, со сглаженным микрорельефом ядер, отсутствием ядрышек, небольшой цитоплазмой. Высота ядра – 315 ± 82 нм, высота цитоплазмы – 169 ± 42 нм. Соотношение высоты ядра к высоте цитоплазмы $1,9 \pm 0,6$. Наши измерения показали, что клетки коллоидного зоба ЩЖ и ПР ЩЖ различаются статистически значимо ($p < 0,05$) по следующим параметрам: высота цитоплазмы, высота ядра,

соотношение высот ядра и цитоплазмы (для коллоидного зоба $1,9 \pm 0,6$, для ПР ЩЖ – $2,5 \pm 1,2$).

2. Разработаны объективные критерии различных степеней дифференцировки инвазивного протокового рака молочной железы.

Важным показателем степени дифференцировки рака молочной железы служит структура и размеры ядрышек. В наших исследованиях наблюдались 3 вида ядрышек: при высокодифференцированном раке преобладали ядрышки цилиндрической формы диаметром в среднем $0,6$ мкм с толщиной стенок около 200 нм и высотой над ядром порядка 20 нм, при умеренно-дифференцированном – цилиндрические с диаметром около 3 мкм, толщиной стенок порядка 1 мкм и высотой над ядром порядка 50 нм, при низкодифференцированном – в виде сплошного (нецилиндрического) возвышения диаметром 2 мкм и высотой над ядром около 150 нм.

Таким образом, были получены объективные дифференциально-диагностические критерии между различными степенями дифференцировки рака МЖ по форме и размеру ядрышек.

3. Определены объективные критерии иммуноцитохимической реакции (ИЦХ) гиперэкспрессии онкопротеина Her2/neu при раке молочной железы. АСМ иммуноцитохимических препаратов с гиперэкспрессией Her2/neu позволяет четко идентифицировать увеличение и уплотнение мембраны опухолевых клеток. При АСМ гиперэкспрессия Her2/neu проявляется возвышением мембраны клеток на 850 нм. Методом АСМ возможна оценка интенсивности иммуноцитохимической реакции по высоте окрашенной мембраны, которая меняется от практически нулевой до 850 нм в зависимости от степени экспрессии онкопротеина Her2/neu. Легко оценивать и замкнутость окраски мембраны. Важность определения при раке молочной железы гиперэкспрессии рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа Her2/neu, придающего клеткам свойство неограниченного деления, определяется тем, что эти опухоли с одной стороны имеют плохой прогноз, но в то же время хорошо поддаются таргетной терапии герцептином.

БИОКЕРАМИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ В СИСТЕМЕ ГИДРОКСИАПАТИТ-КАРБОНАТ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ИНЖЕНЕРИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Гольдберг М.А.¹, Смирнов В.В.¹, Баринов С.М.¹,
Сергеева Н.С.², Свиридова И.К.², Кирсанова В.А.²,
Ахматова С.А.²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт
металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН,
² ФГУ «Московский научно-исследовательский онкологический
институт им. П.А.Герцена, Москва, Россия

В настоящее время в качестве материалов для костной инженерии наиболее часто применяют гидроксиапатит и материалы на его основе с анионными и катионными замещениями. Еще одним активно развивающимся направлением в биоматериаловедении являются материалы на основе карбоната кальция, в частности природные кораллы ряда семейств (Acroporidae, Porites, Gonioporidae и др.). В настоящей работе рассмотрены композиционные материалы на основе двух вышеуказанных компонентов – гидроксиапатита и карбоната кальция. Основным преимуществом данных материалов является контролируемая скорость биорезорбции, позволяющая подбирать оптимальный материал в зависимости от размера костного дефекта и возраста пациента, в зависимости от соотношения компонентов. При этом химическим методом осаждения из водных растворов можно получить смешение основных компонентов на наноуровне, что препятствует избирательной резорбции более растворимого компонента – карбоната кальция. Согласно данным рентгенофазового анализа, синтезируемые материалы являлись бифазными, содержащими карбонат – замещенный гидроксиапатит и карбонат кальция. Разработанная технология спекания позволяла получить прочную биокерамику без термического разложения карбоната – содержащих фаз, способного привести к формированию токсичного оксида кальция. Проведенные испытания *in vitro* показали, что все исследуемые образцы были не токсичны для клеток, поддерживали адгезию, расплавление и пролиферацию фибробластов человека. По данным подкожных испытаний *in vivo*, материалы являлись биосовместимыми, поддерживали неоваскуляризацию и образование соединительной ткани.

Работа выполнена при финансовой поддержке
гранта РФФИ №11-08-00596а.

РАЗРАБОТКА ГЛИКОКОНЪЮГАТОВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛОВ В КАЧЕСТВЕ ИК-ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ДЛЯ ФДТ РАКА

Грин М.А.¹, Миронов А.Ф.¹,
Плотникова Е.А.², Якубовская Р.И.²

¹ Московский государственный университет
тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,

² «Московский научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва, Россия

В настоящее время применяются в клинике или находятся на разных стадиях клинических испытаний фотосенсибилизаторы (ФС) различных классов. Среди них особый интерес представляют природные хлорофиллы и их производные с интенсивным поглощением в красной и ближней ИК-области спектра, поскольку их терапевтическое окно поглощения (660-800 нм) открывает новые возможности для диагностики и лечения злокачественных новообразований.

Однако сами хлорофиллы и бактериохлорофиллы имеют ограниченное применение в качестве ФС из-за высокой гидрофобности, низкой химической и фотостабильности, умеренной селективности накопления в раковых клетках. Туморогенность ныне используемых ФС невелика и реализуется лишь 2-3-кратное повышение концентрации пигмента в опухолевой ткани по сравнению со здоровой. Это приводит к побочным эффектам фотодинамической терапии, включающим фотоповреждение здоровых тканей, окружающих опухоль.

Одним из возможных путей решения этой задачи является конъюгация молекулы ФС с лигандами, для которых имеются специфические рецепторы на поверхности опухолевых клеток.

Показано, что углеводные заместители не только увеличивают растворимость хлорофилов в воде, но и обеспечивают векторную доставку ФС внутрь клетки посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза.

В настоящей работе предложены методы синтеза конъюгатов природных хлорофилов с углеводами, базирующиеся на современных реакциях органической химии. Получены модификационные ряды гликозилированных хлорофилов и бактериохлорофилов, содержащих остатки лактозы и галактозы в различных положениях макроцикла.

Сравнительное исследование, выполненное на различных культурах клеток опухолей человека, показало, что положение углеводных заместителей в макроцикле, их количество, а также тип сахара значительно образом влияют на активность ФС и их накопление в клетках. Наиболее высокая фотоиндуцированная активность выявлена у гликоконъюгатов с остатком углевода в пиррольном кольце А. Увеличение количества углеводных фрагментов, а также присоединение их по «нижней» части макроцикла значительно снижает фотоактивность красителей.

БИОКОНЪЮГИРОВАННЫЕ АНТИСТОКСОВЫЕ НАНОЛЮМИНОФОРЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ

Гуллер А.Е.¹, Шехтер А.Б.¹, Нечаев А.В.²,
Деев С.М.³, Ивукина Е.А.³, Генералова А.Н.³,
Соколов В.В.⁴, Звягин А.В.^{4,5}

¹ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова;

² МИТХТ им. М.В. Ломоносова,

³ ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,

⁴ ООО «Миттель-Люмитек», Москва

⁵ Macquarie University, Sydney, Australia

Новая технология выявления, дифференциальной диагностики и прецизионного определения границ опухолевых образований, основана на введении в организм уникального контрастирующего агента, представляющего собой сложный молекулярный комплекс, состоящий из особых светящихся наночастиц, и биомолекул, специфически связывающихся с целевым антигеном. Такие наночастицы называются антистоксовыми люминофорами или наноразмерными фосфорами (НАФ), а молекулярные комплексы, получаемые путем их конъюгации с биомолекулами, – БиоНАФ.

БиоНАФ избирательно накапливаются в патологически измененных тканях благодаря двум механизмам – пассивному и активному. Пассивный механизм связан с усиленной васкуляризацией и повышенной сосудистой проницаемостью в таких зонах (т.н. феномен EPR). Активный механизм основан на связывании антигена опухолевой ткани

с антителом, входящим в состав БиоНАФ. Антитела для БиоНАФ подбираются в соответствии с целевыми антигенами и присоединяются к НАФ. Благодаря своему составу и структуре, на облучение инфракрасным светом НАФ отвечают яркой люминесценцией в видимом и инфракрасном диапазонах электромагнитных волн. Свечение в видимом диапазоне можно наблюдать непосредственно, невооруженным глазом (поверхностная визуализация), а с помощью портативного томографа можно вызывать и регистрировать свечение наночастиц в глубине биологических тканей (до 1 см) (оптическое зондирование). В эксперименте показано, что с помощью технологии БиоНАФ можно выявлять пораженные участки тканей диаметром менее 5 мм. (иссекать, вводить фармпрепараты, подвергать лучевому лечению). Технология может применяться при полостных хирургических операциях, при лапароскопии и эндоскопии, а также при внешнем осмотре пациента (например, при диагностике опухолей кожи). В отличие от флуоресцентных красителей, радиофармпрепаратов и квантовых точек, БиоНАФ не токсичны и не радиоактивны, быстро выводятся из организма.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦИТОСКЕЛЕТА РАКОВЫХ И НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Ефремов Ю.М., Докрунова А.А., Багров Д.В.,
Воронцова О.В., Соколова О.С.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

Строение и регуляция актинового цитоскелета в раковых и нормальных клетках сильно отличаются, что, возможно, связано с изменениями в активности актин-связывающих белков (Jordan and Wilson, 1998). В результате, раковые клетки более деформируемы, чем нормальные, и примерно на 70% мягче (Cross et al, 2007). Предположительно, особые механические свойства раковых клеток играют важную роль в метастатических процессах и могут быть использованы как маркер метастатического потенциала (Guck et al, 2005). В процессе инвазии происходит адгезия раковой клетки к базальной мембране, локальный протеолиз внеклеточного матрикса и дальнейшая миграция клетки в ткань, для чего требуется активное изменение структуры цитоскелета (Friedl and Wolf, 2003).

Мы исследовали эффект инактивации одного из факторов нуклеации актина – формина – на модуль Юнга раковых и нормальных клеток. В качестве раковых были использованы эпителиальные клетки рака простаты DU-145 и PC3, в качестве нормальных – клетки Vero из эпителия почки африканской зеленой марышки. Для измерения модуля Юнга использовали метод атомно-силовой микроскопии (АСМ) с кантилеверами, модифицированными микросферами. Это позволяло лучше контролировать геометрию зонда и получать значения модуля Юнга, усредненные по относительно большой контактной площадке.

Измеренный нами модуль Юнга клеток Vero составляет ~2 кПа, что хорошо соответствует данным предыдущих исследований нераковых клеток (Faria et al, 2008). У раковых клеток DU-145 и PC3 модуль Юнга значительно меньше (на 40-42%). После инкубации клеток Vero с 2 мкМ раствором ингибитора формина SMIFN2 в течение 14 часов, их модуль Юнга уменьшился на ~30%. С помощью конфокальной микроскопии (окраска родамин-фаллоидином) было выявлено, что в клетках, подвергшихся воздействию SMIFN2, число актиновых филаментов уменьшилось и они, в основном, расположены у основания клетки. У этих клеток также наблюдалось увеличение числа мелких филоподий. Ранее было показано, что экспрессия формина в тканях рака простаты повышена по сравнению с нормальными клетками (Sokolova et al, 2011). Принимая во внимание тот факт, что уменьшение количества фибриллярного актина часто наблюдается в раковых клетках, мы предполагаем, что формин в клетках рака простаты может быть инактивирован. Инактивация нуклеаторов актина, по-видимому, ведет к изменению эластических свойств раковых клеток.

1. MA Jordan, L Wilson. Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy Current Opinion in Cell Biology 10(1), 123-130 (1998).
2. SE Cross, YS Jin, J Rao, JK Gimzewski Nanomechanical analysis of cells from cancer patients Nature Nanotechnology 2, 780-783 (2007).
3. J Guck, S Schinkinger, B Lincoln, F Wottawah S Ebert, M Romeyke, D Lenz, HM Erickson, R Ananthakrishnan, D Mitchell, J Käs, S Ulvick, C Bilby. Optical Deformability as an Inherent Cell Marker for Testing Malignant Transformation and Metastatic Competence Biophysical Journal 88(5), 3689-3698 (2005).

4. P Friedl, K Wolf. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms *Nature Reviews Cancer* 3, 362-374 (2003).
5. EC Faria, N Ma, E Gazi, P Gardner, M Brown, NW Clarke, R D. Snook. Measurement of elastic properties of prostate cancer cells using AFM Analyst 133, 1498-1500 (2008).

ПЕРСПЕКТИВЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ВИДОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

А. Р. Зарецкий^{1,2*}, А. В. Белоусова², О. В. Дрозд², и Д. А. Шагин^{1,2}

1 ИБХ им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН,
2 ООО «Евроген Лаб», Москва.

Введение. Фрагменты ДНК опухолевого происхождения могут быть обнаружены в различных биологических образцах онкологических больных, включая плазму крови, мочу, слюну и даже конденсат выдыхаемого воздуха. Качественный и количественный анализ опухолеспецифических ДНК может стать основой для минимально инвазивного скрининга злокачественных опухолей, оценки радикальности проведенного лечения, а также для мониторинга динамики опухолевого процесса и изменения профиля лекарственной чувствительности опухолевых клеток в ходе терапии. Однако мутантные и гиперметилованные фрагменты ДНК опухолевого происхождения представлены в этих образцах, во-первых, в предельно малом количестве, а во-вторых, на фоне многократно большего количества фрагментов ДНК «дикого типа», попадающих туда из неизмененных органов. Соответственно, основой для неинвазивной генодиагностики рака могут стать только методы с высокой чувствительностью и избирательностью.

Цель. Разработать стратегию создания тест-систем для неинвазивной генодиагностики в онкологии.

Материалы и методы. Были систематизированы данные научной литературы об имеющихся технологиях мутационно-специфического анализа и уровне их чувствительности, специфичности и воспроизводимости. На основе систематизированных данных выбирались наиболее перспективные технологии, в которые далее вносились необходимые модификации и дополнения. Тестирование вариантов технологии осуществлялось с помощью ПЦР в режиме реального времени, результаты которой проверялись анализом кривой плавления, электрофорезом в ПААГ и секвенированием продуктов ПЦР. Использовались панели валидированных контрольных образцов ДНК.

Результаты. По результатам анализа литературных данных наиболее перспективными методами были признаны т. н. «proof-reading PCR» и «wild-type blocking PCR». Применимыми для неинвазивной генодиагностики рака могут быть методы с избирательностью $\geq 1 : 100$; однако для осуществления таких задач, как скрининг, необходима избирательность порядка $1 : 100\ 000$. Разработанные нами тест-системы для анализа мутаций в генах K-Ras и B-Raf, использующие метод «wild-type blocking PCR», обеспечивают избирательность порядка $1 : 200$ при использовании ПЦР в режиме реального времени и порядка $1 : 2\ 000$ при использовании ПЦР с последующим прямым секвенированием продуктов ПЦР по Сэнгеру. Чувствительность данных методик в обоих случаях составляет около 10 копий в реакции. Методики отличаются также хорошей воспроизводимостью на ДНК из различных биологических образцов.

Заключение и выводы. Разработанные нами тест-системы позволяют решать некоторые задачи неинвазивной генодиагностики в онкологии. Для получения более универсальных тест-систем необходимо значительное увеличение избирательности анализа. Вопреки мнению ряда авторов, мы полагаем, что добиться такого увеличения путем модификации условий реакции почти невозможно. В докладе будут описаны подходы к практически неограниченному увеличению избирательности мутационного анализа с применением высокопроизводительных генетических анализаторов, а также будут сформулированы требования к биологическому материалу для такого высокоизбирательного анализа и методологические предосторожности, необходимые при интерпретации его результатов.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА РОСТ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ОПУХОЛИ

Златник Е.Ю.¹, Передреева Л.В.¹, Мурадян В.Е.²,

Садков А.Н.³, Квачева Л.Д.⁴, Червонобродов С.П.³

¹ ФГУ «РНИОИ Минздрава России», Ростов-на-Дону,

² Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка,

³ ООО «Карбонлайт», Долгопрудный Московской области,

⁴ Институт элементоорганических соединений РАН, Москва

Исследование действия различных наноразмерных частиц на опухолевый рост является актуальной задачей современной биологии и медицины. Мы изучали влияние на него одностенных углеродных нанотрубок (НТ), функционализированных NH₂-группами (длина 40-100 нм, диаметр 10-30 нм), изготовленных на предприятии «Карбонлайт» (Москва).

Цель работы: экспериментальная оценка влияния введения НТ на опухолевый рост.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 10 белых беспородных крысах-самцах (масса 170-200 г). Опухоль лимфосаркомы Плисса (ЛСА) перевивали под кожу спины по 15×10^6 клеток/мл. Когда объем опухоли достиг 0,1 см³, животным опытной группы начинали интрабуральное введение взвеси НТ (100 мкг/мл в 4% проксанол, перед введением обрабатывали ультразвуком для предотвращения агрегации); выполняли 8 введений, суммарная доза НТ 400 мкг на крысу. Контрольной группе аналогично вводили 4% проксанол. Определяли динамику объема опухоли и продолжительность жизни животных.

Результаты. Через 1 неделю после начала введения исследуемых веществ в контрольной группе объем опухоли достиг $19,92 \pm 1,4$, а в опытной группе – $3,26 \pm 0,63$ см³; через 2 недели объем ЛСА составлял $52,4 \pm 7,33$ и $7,88 \pm 1,22$ см³ соответственно (в оба срока исследования различия статистически достоверны, $P < 0,05$). К 3-й неделе все контрольные животные погибли при явлениях бурного роста опухоли, у опытных она выросла до $14,17 \pm 1,01$ см³, т.е. была меньше, чем сформировавшаяся в контрольной группе через 1 неделю. Тем не менее, в опытной группе рост ЛСА продолжался, животные погибли. При этом их продолжительность их жизни составила $32,4 \pm 1,54$ дня после перевивки или $25,1 \pm 2,2$ дней после начала введения НТ, статистически достоверно превышая контроль, где этот показатель составлял $24 \pm 1,2$ дня после перевивки или $17,0 \pm 1,8$ дней после начала введения проксанола ($P < 0,05$).

Таким образом, интрабуральное введение взвеси коротких одностенных углеродных нанотрубок, функционализированных аминогруппами, приводит к торможению роста перевиваемой ЛСА Плисса, но в исследованной дозе не вызывает ее регрессии.

ГИПЕРПОЛЯРИЗУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ОДНОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА КЛЕТКИ ОПУХОЛЕВОГО АСЦИТА САРКОМЫ 37 МЫШЕЙ IN VITRO

Златник Е.Ю., Тарнопольская О.В., Передреева Л.В.

ФГБУ «РНИОИ Минздрава России», Ростов-на-Дону

Изучение биологических свойств опухолевых клеток, включая их мембранные характеристики при различных внешних воздействиях, является актуальной научной задачей. Мембранология и мембранные технологии являются важным разделом нанотехнологий. Нами изучено влияние углеродных нанотрубок (НТ) на мембранный потенциал (МП) клеток в культуре для оценки их эффекта на эту интегральную характеристику состояния мембран, связанную с регуляцией функции клеток.

Материалы и методы. Использовали одностенные углеродные нанотрубки (НТ), функционализированные NH₂- и COOH-группами, изготовленные на предприятии «Карбонлайт» (Москва), длина 40-100 нм, диаметр 10-30 нм в концентрации 1 мкг/мл. Взвесь НТ инкубировали со взвесью клеток асцитной саркомы 37 мышей в течение 30-180 мин при 37°C. Исследование МП проводили с помощью пары потенциалозависимых флуоресцентных зондов: аниона АНС (1-анилинонафталин-8-сульфонат) (Serva) и катиона ДСМ (p-толуолсульфонат 4-(p-диметиламиностирил)-1 метилпиридиний) (синтезирован НИИФОР при ЮФУ). Флуоресценцию АНС возбуждали светом длиной волны 375 нм, длина волны флуоресценции АНС была 480 нм; для ДСМ 450 нм и 520 нм соответственно. Конечная концентрация АНС в препарате клеточной суспензии была 40 мкМ, ДСМ – 20 мкМ. Готовили препараты на предметных стеклах, съемку и измерения проводили на люминесцентном микроскопе «Axio Imager M2» Zeiss с помощью программного обеспечения AxioVision, rel.4.8. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistika 6.0, использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты показали повышение МП клеток (гиперполяриза-

цию) через 1 час инкубации с НТ в 1,25-1,5 раз по сравнению с контролем. Через 3 часа инкубации клетки необратимо меняются: их объем увеличивается в 1,3-1,7 раза, происходит их деструкция, дистрофия ядер. Предположительно, это говорит о том, что при повреждении клеток С37 под действием НТ перфорации мембраны не происходит, т.к. в противном случае внеклеточная и внутриклеточная концентрация K^+ выравнивается, что вызвало бы деполяризацию. Возможно, в клетках саркомы включаются механизмы поддержания ионного гомеостаза, например Na-K-АТФаза, на что косвенно указывает высокая яркость митохондрий при окраске ДСМ, характеризующая их активность.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ЭЛЬВИТА-УДИВИТ» В ОНКОЛОГИИ

Ихалайнен Е.С., Ершова М.Л.,
Кондаков С.Э., Мельников М.Я.

Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова,
НОЦ Химическая физика биохимических и биологических
процессов, ООО «Алвита», Москва

Анализ литературы по онкогенезу позволил выделить следующие, считающиеся доказанными, общие черты течения любого опухолевого процесса. Наличие нескольких стадий развития, устранение дифференциации опухолевых клеток по сравнению с исходными, упрощение метаболизма опухолевых клеток (уменьшение количества ферментных систем, гликолизный метаболизм), увеличение скорости деления клеток до нескольких порядков по сравнению с нормальными [1].

Исходя из предложенного Н.М.Эмануэлем кинетического подхода [2], нами были выделены вещества, которые образуются только при нарушении обычных путей метаболизма глюкозы в клетках. Применение данных веществ, класса оксалей, в виде конъюгатов с углеводородами в нано концентрациях позволило создать малотоксичный препарат, обладающий иммуномодулирующей активностью, что в ряде случаев позволяет восстановить метаболизм опухолевых клеток [3]. На основе данного класса веществ был разработан фармацевтический препарат «Эльвита-Удивит», аттестованный и выпускающийся в настоящее время для ветеринарии. Проведенные испытания показывают совместимость данного препарата с любой из медикаментозных терапий, применяемых в онкологии, уменьшение сроков ремиссии после операций по удалению опухолей, снижение интоксикации при проведении курса химиотерапии и облучения у домашних животных и в ряде случаев консервацию процессов метастазирования и опухолевого роста.

1. W. Oehlert. The kinetic mechanism of cell resistant. Cell Tissue Kinet. 1973; 6: 325-335.
2. N.M.Emanuel', and Biological Kinetics. Russ. Chem. Rev. 1981; 50 (10): 901-947.
3. И.Н. Швембергер. Нормализация опухолевых клеток. Л.: Наука. 1987; 141.

СИНТЕЗ IN SITU КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ/БИОПОЛИМЕР

В.С. Комлев, А.Ю. Федотов, С.М. Баринов,
И.В. Фадеева, Н.В. Бакунова.

Учреждение российской академии наук Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва

Композиционные материалы на основе биодegradуемых полимеров, армированных фосфатами кальция, перспективны для применения в качестве матриц для восстановления поврежденных костных тканей. В работе изложены результаты исследований в области синтеза композиционных материалов с биополимерной матрицей, армированной частицами фосфата кальция. Синтез фосфатов проводился непосредственно в растворах биополимера (хитозан, желатин), при различных рН раствора. Получены пористые композиционные материалы с варьируемыми микроструктурой, составом и размером частиц фосфата кальция. Материалы перспективны для использования в реконструктивно-восстановительной хирургии в онкологии.

Работа поддержана грантом РФФИ ОФИ № 11-03-12083

«Упрочнение пористых оксидных материалов модифицированием

поверхностей пор полимерами»

ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСА НАНОАЛМАЗОВ И САЛИНОМИЦИНА В МОДЕЛИ РАКОВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК IN VIVO

Конопляников А.Г., Конопляников М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Медицинский радиологический научный центр (ФГБУ МРНЦ) Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Обнинск
Российский государственный медицинский университет (РГМУ) им. Н.И.Пирогова, Москва

На модели раковых стволовых клеток (РСК), полученных путем обработки лабораторных мышей канцерогеном 1,2-диметилгидразином, было показано, что комплекс наноалмазов и ингибитора раковых стволовых клеток салиномицина по своей эффективности против РСК значительно превышает повреждающее действие каждого из использованных компонентов отдельно в этой модели и без повышения токсического действия на организм животных. Это позволяет надеяться, что наноалмазы могут применяться не только в комбинации с известными химиотерапевтическими препаратами, что сейчас эффективно изучается во многих зарубежных научно-исследовательских учреждениях, но и могут с успехом применяться в качестве агента доставки специфических противоопухолевых ингибиторов к зонам РСК, что делает перспективным этот новый способ усиления эффекта химиотерапии резистентных форм злокачественных новообразований.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЭРЛОТИНИБА В ТЕРАПИИ МЕСТНО- РАСПРОСТРАНЕННОГО ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

Космынин А.А.*, Коробкова А.Ю., Генс Г.П.

Московский Государственный Медико-Стomatологический Университет,
Онкологический центр ОАО «РЖД», Москва
*e-mail:kosmos-83@list.ru

Эффективное лечение местно-распространенного плоскоклеточного рака орофарингеальной зоны остается актуальной проблемой и по настоящее время. Ввиду того, что в 80-100% при плоскоклеточном раке орофарингеальной области выявляется гиперэкспрессия рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), наиболее перспективным направлением в лечении видится применение таргетной терапии. Эрлотиниб (Тарцева) – препарат молекулярно нацеленного действия, высоко-специфично блокирующий тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), играющего важнейшую роль в развитии опухоли, её росте, ангиогенезе и метастазировании. В ряде клинических исследований показана достоверная эффективность эрлотиниба. Так во II фазе применения эрлотиниба у больных метастатическим ПРГШ после хирургического лечения, химиотерапии и/или лучевой терапии медиана времени до прогрессирования составила 9,6 недель (95% ДИ 8,1-12,1 недель), медиана общей выживаемости 6 месяцев, что составило 10,4% (95% ДИ 5,5-17,5%).

Задача исследования. Оценить эффективность и переносимость комбинации цисплатин/5-фторурацил с эрлотинибом у ранее нелеченных больных распространенным плоскоклеточным раком орофарингеальной зоны с учетом биологического профиля EGFR.

Материал и методы. Лечение получали больные с морфологически верифицированным диагнозом плоскоклеточного рака полости рта, глотки III,IV стадии, которым проводилась индукционная терапия по следующей схеме: цисплатин в дозе 100 мг/м² в 1 день, 5-фторурацил в дозе 500 мг/м² в/в 1-5 день с интервалом в 21 день 4 курса и эрлотиниб 100 мг per os с первого дня лечения ежедневно. Объективный ответ оценивался согласно критериям RECIST. До начала терапии у всех больных определялся молекулярный статус EGFR методом иммуногистохимии и способом полимеразно-цепной реакции. Переносимость и качество жизни оценивались по субъективному состоянию (ECOG), критериям токсичности CTC-NCIC.

Результаты. С октября 2010 по ноябрь 2011 года лечение было проведено 12-ти больным, которые получали лечение стандартной химиотерапией в комбинации с ежедневным приемом эрлотиниба. Эффект оценен у всех больных завершивших I-й этап комплексного лечения. Объективный противоопухолевый эффект наблюдался у 10 больных (83,3%) – частичный ответ (регрессия опухоли на 50-80%), у двоих па-

циентов (16,7%) достигнута стабилизация процесса. В 100% случаев отмечена гиперэкспрессия EGFR, мутаций не обнаружено. Переносимость лечения удовлетворительная – ECOG 1-2 до после завершения терапии. Из побочных реакций обращала на себя гематологическая токсичность 1-2 степени, кожная сыпь 1-2 степени в 90% случаев, что коррелировало с клиническим ответом опухоли.

Выводы. Изученная комбинация обладает выраженной противоопухолевой активностью и умеренной токсичностью, хорошей переносимостью. Отсутствие мутации EGFR не влияет на эффективность терапии. Набор материала продолжается.

СТАБИЛЬНЫЕ ЗОЛИ СУЛЬФИДА РЕНИЯ ДЛЯ РАДИОИЗОТОПНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Костылев А.И.¹, Покровский Ю.Г.¹, Фирсин Н.Г.¹,
Решетов И.В.², Сухарев С.С.³

¹ ФГУП НПО «Радиевый институт им. В.Г. Хлопина», Санкт-Петербург,

² ФГУ «Московский Научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена»,

³ Кафедра онкологии ИПК ФМБА, Москва

В докладе представлены результаты работ по получению наночастиц гептасульфида рения. Коллоидные растворы наночастиц гептасульфида рения находят применение в медицинских целях – как для диагностики, так и для терапии онкологических заболеваний. В первом случае такие растворы метят ^{99m}Tc, во втором – вводят изотоп ¹⁸⁸Re.

В исследования для получения ультрадисперсного гептасульфида рения был использован метод его химического осаждения из растворов перрената аммония с последующим отделением центрифугированием. Определены условия получения устойчивых золь сульфида рения с размерами наночастиц 80-120 нм. Полученные препараты исследованы методом атомной силовой микроскопии.

Изучены условия присоединения метки ^{99m}Tc к наночастицам сульфида рения и устойчивость материала в физиологических растворах.

РАЗРАБОТКА НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ДОПИРОВАННЫХ ПОРФИРАЗИНОМ ИТТЕРБИЯ

Леканова Н.Ю.¹, Балалаева И.В.¹, Клапшина Л.Г.²,
Лермонтова С.А.^{1,2}, Сайфуллаева М.А.¹, Ширманова М.В.³

¹ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

² Институт металлоорганической химии им. Г.А. Рауваева РАН

³ Нижегородская государственная медицинская академия

В настоящее время в мире ведется активный поиск новых фотосенсибилизаторов с целью повышения эффективности флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. Целью данной работы является оценка флуоресцентных и функциональных свойств новых потенциальных фотосенсибилизаторов на основе биосовместимых полимерных наночастиц, допированных порфиразином иттербия.

В ходе работы синтезирована группа порфиразиновых комплексов иттербия с разными боковыми заместителями. Получены их стабильные биосовместимые формы, путем заключения комплексов в наноразмерную полимерную капсулу.

Показано, что наночастицы, допированные порфиразином иттербия, обладают высоким коэффициентом поглощения и сильной люминесценцией в области оптического «окна прозрачности» биотканей. Кроме того, зарегистрировано значительное усиление флуоресценции комплексов в сыворотке крови и растворе альбумина, что свидетельствует об их связывании с белками. Показана способность комплексов к генерации синглетного кислорода при облучении. Выявлено, что исследуемые наночастицы быстро накапливаются в опухолевых клетках в культуре и концентрируются вокруг ядра, локализуясь, предположительно, в лизосомах. В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано отсутствие «темновой» цитотоксичности наночастиц в пределах до 0,1 мМ. Предварительные эксперименты по оценке фармакокинетики показали, что максимум накопления наночастиц в опухоли составляет 6-10 часов. Практически полное выведение наночастиц из организма наблюдалось через 24 ч после инъекции. Более длительное (свыше 6 суток) удержание наночастиц было отмечено в коже и опухоли.

В целом, биосовместимые полимерные наночастицы, допированные порфиразином иттербия по своим оптическим свойствам и особенностям взаимодействия с биологическими объектами представляют интерес в качестве потенциального фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии и/или флуоресцентного маркера.

ИТТЕРБИЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПОРФИРИНОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

А.Ф. Миронов*, В.Д. Румянцева*, А.В. Иванов**,
Н.Г. Хлебцов***, И.П. Шилов****.

* Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,

** НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей им. Н.Н. Блохина РАМН,

*** Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, РАН, Саратов

**** Институт радиотехники и электроники РАН, Фрязино

Важным направлением в борьбе с раковыми заболеваниями является раннее диагностирование опухоли, основанное на изучении либо собственной люминесценции перерожденной ткани, либо приобретаемое ею в процессе обработки специальными красителями. К таким соединениям относятся нефототоксичные иттербиевые комплексы порфиринов, которые при облучении имеют крайне низкий квантовый выход синглетного кислорода, что не вызывает разрушение ткани в отличие от ФДТ рака.

Нами осуществлен синтез большой группы иттербиевых комплексов природных и синтетических порфиринов и изучены их физико-химические и биологические свойства. Среди исследованных соединений наиболее эффективным фотосенсибилизатором для люминесцентной диагностики злокачественных новообразований оказался 2,4-диметоксигематопорфирин IX (Yb-FC), который получают из гемина крови. Yb-FC имеет низкую токсичность, хорошо накапливается в опухоли и интенсивно флуоресцирует в диапазоне 975-985 нм, где собственная люминесценция биотканей является минимальной. В дальнейшем, для отказа от использования липосомальной формы при введении препарата, была приготовлена его хорошо растворимая в воде дикалиевая соль. Данные по кинетике накопления и выведения на мышцах-самках свидетельствуют о преимущественном накоплении препарата в опухоли через 48 часов после его введения в организм животных. Селективность Yb-FC достигала 16. Показано, что время жизни люминесценции в растворе составляет 8-10 нс и его можно детектировать при концентрациях 10-11 М.

Получены композитные наночастицы, состоящие из золото-серебряных наноклеток, покрытые мезопористой оболочкой из двуокиси кремния и функционализированные Yb-FC (около 1500 молекул на частицу). Проведено сравнение биораспределения и люминесценции Yb-FC и его конъюгата с наночастицами на мышцах с привитой карциномой Эрлиха. Показано увеличение накопления в опухоли композитных наночастиц по сравнению Yb-FC.

НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МОДЕЛЕЙ ОПУХОЛЕВЫХ 3D И LONG-TERM КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОПРЕПАРАТОВ

Мурашко Д.А., Абрамов А.А.,
Вислобоков А.А., Сапожников А.М.

Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина, Москва

Развивающиеся в последние годы технологии 3D клеточных культур, long-term культур и первичных культур опухолевых клеток являются перспективными *in vitro* моделями для исследования воздействия нанопрепаратов на опухолевые клетки и ткани. Подобные модели, в сравнении с обычными культурами клеток, более приближены к реальным условиям *in vivo*. Так, 3D культуры состоят из большого количества плотно ассоциированных друг с другом клеток, что не только моделирует реальные условия проникновения препаратов в настоящую опухолевую ткань, но и повышает сопротивляемость клеток к токсическим воз-

действия препаратов. Long-term и первичные опухолевые культуры, в отличие от обычных клеточных линий, имеют генотип более близкий к родительской опухоли, что оправдывает все сложности работы с такими моделями. Несмотря на обилие уже существующих в настоящее время технологий, приспособление данных клеточных моделей для исследования воздействия новых препаратов и нанолечебных комплексов оставляет широкое поле для усовершенствований. В частности, одной из проблем при исследовании воздействия препаратов на модели первичной клеточной культуры является значительная морфологическая и генетическая гетерогенность опухолевых клеток и клонов. В этом случае определение «тотального» генотипа, а именно выделение ДНК из всего препарата лишено всякого смысла из-за невозможности отделить ДНК опухолевой клетки от ДНК нормальных, окружающих её клеток, и разного профиля экспрессии генов в клетках различного происхождения. Здесь нам на помощь приходят стандартные методы, первоначально разработанные для решения задач репродуктивных и молекулярно-генетических технологий. В частности, для выделения отдельных опухолевых клонов и клеточных ассоциатов из первичных опухолевых культур и тканей в настоящее время используются микроманипуляция, микродиссекция – в вариантах УФ и ИК лазерной или механической диссекции, а для определения генотипа – усовершенствованные методы генетической диагностики. ИК лазерная микродиссекция, с некоторыми усовершенствованиями, с успехом может использоваться для выделения живых клеток и фрагментов тканей для их последующего анализа или культивирования, а также для моделирования глубокого проникновения в ткань препаратов, наночастиц и наноконструкций при проверке их действия в моделях первичных и 3D опухолевых культур.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ-РЕГУЛЯТОРОВ АПОПТОЗА ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Пучинская М. В.

Минский городской клинический онкологический диспансер,
Минск, Республика Беларусь

Рак предстательной железы (РПЖ) является одной из наиболее распространенных опухолей у мужчин. Важное значение в его возникновении и прогрессировании играет нарушение процесса апоптоза. В связи с этим экспрессия ряда белков-регуляторов апоптоза, в частности, проапоптотического белка семейства Bcl-2 Вах и мутантной формы антиапоптотического белка p53, может влиять на прогноз у пациентов с РПЖ после различных видов лечения.

Цель работы: определить прогностическое значение регуляторов апоптоза Вах и p53 у пациентов после радикальной простатэктомии (РПЭ).

Материалы и методы: были изучены образцы ткани РПЖ, полученные от 104 пациентов при РПЭ. Иммуногистохимическая окраска препаратов проводилась с использованием антител к Вах и p53 и визуализирующей системы EnVision (DAKO). Результаты обработаны статистически (Statistica 6.0, StatSoft.Inc).

Результаты. Во всех образцах присутствовала аденокарцинома простаты, степень ее дифференцировки определялась по системе Глисона. При этом 57 (54,81%) образцов были умеренно дифференцированными (сумма Глисона 4 – 6 баллов), а 47 (45,19%) – низкодифференцированными (сумма Глисона 7 – 10 баллов). Экспрессия белков оценивалась полуколичественно: для Вах по доле иммунопозитивных клеток в образце и интенсивности их окрашивания с последующим суммированием полученных баллов, для p53 – только по доле клеток с позитивно окрашенными ядрами. Следует отметить, что в низкодифференцированных опухолях чаще встречалось снижение экспрессии Вах ниже максимальной оценки (33,33% vs. 82,98%, соответственно) и наличие мутантного p53 (89,36% vs. 66,67%). Также снижение экспрессии Вах и наличие мутантного p53 достоверно повышало частоту наступления неблагоприятных исходов (биохимический рецидив, появление метастазов, смерть пациента) как в целом в группе исследованных пациентов, так и у пациентов с высоко- и низкодифференцированными РПЖ (метод Каплана-Майера, лог-ранговый тест $p < 0,01$; $p < 0,05$ для p53 у пациентов с низкодифференцированным раком).

Выводы.

1. У пациентов с низкодифференцированным РПЖ чаще встречается снижение экспрессии проапоптотического белка Вах и наличие в ткани опухоли мутантной формы антиапоптотического белка p53.

2. Снижение экспрессии Вах и наличие мутантного p53 статисти-

чески достоверно ухудшает прогноз у пациентов с РПЖ, независимо от степени дифференцированности опухоли.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКА Ki-67 ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Пучинская М.В.¹, Летковская Т.А.²

¹ Минский городской клинический онкологический диспансер,

² Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь

В настоящее время в мире растет заболеваемость раком предстательной железы (РПЖ). Одной из важных характеристик опухоли, наряду со степенью ее дифференцировки, является пролиферативная активность. Наиболее часто для определения в опухоли клеток, находящихся в разных фазах митотического цикла, применяется иммуногистохимическое определение экспрессии в раке белка Ki-67.

Цель работы: определить пролиферативную активность РПЖ на основании определения экспрессии в опухоли белка Ki-67.

Материалы и методы: мы изучили образцы РПЖ, полученные при радикальной простатэктомии от 104 пациентов. Экспрессия Ki-67 определялась иммуногистохимически с использованием мышиных антител (DAKO) в разведении 1:200. Визуализирующая система – EnVision (DAKO). Результаты обработаны статистически (Statistica 6.0, StatSoft.Inc).

Результаты. Для оценки пролиферативной активности РПЖ мы рассчитывали индекс пролиферативной активности (ИПА) как процентное отношение числа Ki-67-позитивных клеток в 4 – 9 случайных полях зрения ($\times 400$) к общему числу опухолевых клеток в них. При этом ИПА в изученных образцах составил от 1,46 до 67,88, среднее значение $10,50 \pm 9,11$. Наиболее часто встречались образцы с ИПА от 4 до 7 (27,88%) и от 7 до 10 (24,04%). Была установлена статистически достоверная прямая корреляционная связь средней силы между ИПА и суммой Глисона (тест Спирмена, $r = 0,593$, $p < 0,01$), что, видимо, является следствием повышения пролиферативной активности опухоли в процессе ее дедифференцировки. Также у пациентов с низкодифференцированным раком (сумма Глисона 7 – 10 баллов) ИПА опухоли был достоверно выше, чем в случае более высокодифференцированных опухолей (сумма Глисона 4 – 6 баллов) ($7,77 \pm 3,54$ vs. $13,8 \pm 9,1$, тест Манна-Уитни, $p < 0,01$).

Выводы.

1. ИПА в РПЖ может варьировать в широких пределах.

2. Отмечается достоверная прямая связь между пролиферативной активностью опухоли и степенью ее дифференцировки.

3. Иммуногистохимическое определение белка Ki-67 может считаться достаточно доступным методом определения пролиферативной активности РПЖ, что может в последующем использоваться для уточнения диагноза и выбора оптимальной тактики лечения данного заболевания.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ БИОИНЖЕНЕРНОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ IN VIVO

И.В. Решетов, А.В. Васильев*, Е.В. Багутьина**,
Е.С. Киселева*, И.В. Ребрикова

МНИОИ им. П.А. Герцена МЗ РФ,

Институт Биологии Развития им. Н.К. Колюцова РАН,
Кафедра онкологии ГОУ ИПК ФМБА России**, Москва

Цель исследования: сформулировать требования к биологическим свойствам носителя для многокомпонентного клеточного трансплантата, используемого для реконструкции верхних дыхательных путей.

Материалы и методы. Проведено экспериментальное исследование на 40 лабораторных животных - кроликах. Предметом экспериментальных исследований было изучение механизмов взаимодействия биоматериалов с компонентами многокомпонентного клеточного трансплантата. Особый интерес представляла оценка поведения хондроцитов на подложках-носителях и «in vivo». В работе были использованы следующие полимерные и биологические носители: биodeградируемая пористая губка «ЭластоПЮБ-3D» изготовленная на основе бактериального сополимера полиоксипропирилата с валератом и полиэтиленгликолем;

«Биоматрикс», являющийся декальцинированной кортикальной костью; гранулы гидроксиапатита; полимер из солей молочной кислоты; аллогенная надкостница, аллогенная кость.

Предварительно производилось культивирование хондроцитов на поверхности подложки-носителя. Затем производилась имплантация клеточного трансплантата в сальник на 2 недели. Контрольную группу составляли животные с имплантированным клеточным эквивалентом (хондроциты в коллагеновом геле) в сальник. Через две недели животные выводились из эксперимента, производилась визуальная и морфологическая оценка трансплантата.

Результаты. Суммарно оценивая результаты имплантации хондроцитов на различных носителях в сальник, при гистологическом исследовании, во всех группах животных было выявлено наличие воспалительной инфильтрации с продуктами биодеградации подложки-носителя без наличия хрящевой ткани. В контрольной группе животных и у одного животного при имплантации на «Биоматрикс» выявлено сохранение аллогенных хондроцитов. Необходимо отметить, что при имплантации на «Биоматрикс» отмечалась выраженная воспалительная инфильтрация и наличие некробиотических масс вокруг трансплантата. Можно предположить, что наличие некробиотических масс в виде волокон является продуктом резорбции «биоматрикса». Кроме того, очаги гранулематозного воспаления имелись и в контрольной группе животных, связанных скорей всего с наличием шовного материала.

Выводы. Проведенные морфологические исследования показали, что наличие любой, даже незначительной воспалительной реакции организма на подложку-носитель является губительной для хондроцитов, препятствует формированию многослойной структуры-хряща и приводит к его лизису. Представленные результаты исследования позволили сформулировать основные свойства, которым должен отвечать носитель: не должен оказывать токсического, аллергического, воспалительного, канцерогенного действия; носитель должен иметь структуру благоприятную для адгезии стволовых клеток, но препятствовать прорастанию сосудов внутрь, по возможности иметь трехмерную структуру (необязательно); носитель должен обладать достаточной прочностью - каркас трахеи; длительный срок биодеградации – не менее 6-х месяцев; при биодеградации не должен фрагментироваться.

РЕАБИЛИТАЦИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Решетов И.В., Филоненко Е.В., Голубцов А.К., Кирпа Е.А.

(Московский научно-исследовательский институт онкологии им.П.А.Герцена, Москва)

Вступление. Доля рака щитовидной железы в структуре онкологической заболеваемости мужского населения стран СНГ достигла 0,5-1%, женского – 1-4,6%. Основной метод лечения рака щитовидной железы – хирургический. Особое место среди осложнений хирургического лечения рака щитовидной железы по тяжести проявления и сложности профилактики занимает послеоперационный гипопаратиреоз, который развивается при удалении или повреждении паращитовидных желёз во время хирургического вмешательства на щитовидной железе. Снижение уровня паратгормона в сыворотке крови при этом приводит к нарушению кальций-фосфорного обмена, проведения нервного импульса, сокращения мышц и свертывания крови, прочности и структуры скелетной системы. Поэтому повреждение паращитовидных желёз во время операции на щитовидной железе может привести к тяжелым проявлениям гипопаратиреоза.

Цель работы. Применяемые в настоящее время методы интраоперационной визуализации и сохранения паращитовидных желёз недостаточно эффективны. Цель данной работа – разработать методику профилактики паратгормональной недостаточности у больных раком щитовидной железы, не требующую сложных инструментов, не дающую осложнений, легко повторяемую и дающую хорошие, стабильные результаты.

Материал и методы. Нами применен метод интраоперационного сохранения паращитовидных желёз у 73 больных. Описание метода: необходимые инструменты: а) Препарат Аласенс (гидрохлорид 5-аминолевулиновой кислоты) из расчёта 30мг/кг. б) Источники оптического излучения фирмы «Карл Шторц» – Германия, с длиной волны в диапазоне от 385 до 460 нм.

До выполнения оперативного вмешательства (как первичного, так и реоперации) у пациентов исследуется уровень паратгормона и кальция. Далее в день операции за 2,5-3 часа до интубации перорально принимается препарат аласенс (из расчёта 30 мг/кг). Интраоперационно

выполняется флюоресцентная навигация паращитовидных желёз. При обнаружении флюоресцирующих участков выполняется срочное цитологическое исследование (подтверждение того, что участок – ткань паращитовидной железы). Выполняется удаление препарата. При отсутствии онкологических противопоказаний выполняется выделение и транспозиция (при необходимости – аутотрансплантация) паращитовидных желёз.

Для оценки эффективности сохранения паращитовидных желёз выполняется контроль уровня паратгормона на 7, 27 и 57 сутки после операции и кальция на 1, 3,7 сутки после операции и далее каждые 10 дней.

Результаты и обсуждение. В результате применения описанного метода снижается вероятность развития паратгормональной недостаточности, повышается точность визуализации и сохранения паращитовидных желёз, не требуется применение радиоизотопов, данная методика легко воспроизводима.

Заключение: При применении данной методики удалось сохранить функцию паращитовидных желёз после удаления/резекции щитовидной железы у 71 из 74 пациентов.

ДАнные экспериментального и клинического этапа применения титановых пластин с биокерамическим покрытием при реконструкции лицевого скелета

Решетов И.В., Штанский Д.В., Ратушный М.В., Филонин М.М., Сухарев С.С.

МНИОИ им.П.А.Герцена,
Государственный институт Стали и Сплавов
(Технологический Университет), Москва

Лучевая и химиотерапия, необходимые при комплексном лечении опухолевой патологии значительно уменьшают регенераторные способности организма, и ведут в 10-15% к отторжению синтетических материалов применяемых при реконструкции костных дефектов челюстно-лицевой зоны. Для реконструкции тканевых дефектов, образующихся после обширных хирургических вмешательств в настоящее время используются различные методы алло- и аутотрансплантации, а так же осуществляется поиск и разработка новых биосовместимых материалов для восстановления дефектов. Среди множества био материалов перспективными являются пористые керамические материалы на основе фосфатов кальция, в связи с их близостью по составу с внеклеточным веществом кости. Современные биоматериалы, используемые в реконструктивной хирургии должны обладать высокой прочностью, повышенной коррозионной и износостойкостью, хорошей биологической совместимостью и нетоксичностью. В то время как многие металлы и сплавы соответствуют многим из этих требований, они обеспечивают достаточно неплотное соединение между металлической поверхностью и костной тканью. Для обеспечения наиболее эффективного контакта между костными фрагментами и имплантатом необходимо наличие многофункционального биологически активного наноструктурного покрытия на поверхности имплантата.

На базе МНИОИ им. П.А. Герцена проведены экспериментальные работы по имплантации в область костного дефекта титановых пластин с различными вариантами биокерамического напыления. На первом этапе использовались две группы крыс, каждая из которых включала четыре животных. Животным выполнялась трепанация теменной кости размером до 3-4 мм, с замещением костного дефекта титановой пластиной соответствующего размера с наноструктурным биокерамическим напылением и титаном без напыления. Животные обеих групп выводились из эксперимента на 15 и 30 сутки с предварительным рентгенологическим исследованием и последующим морфологическим исследованием области хирургического воздействия. Данные рентгенологического исследования показали отсутствие патологической периостальной реакции, вокруг имплантации титана в обеих группах, и восстановление опорной функции резецированного костного фрагмента. При гистологическом исследовании и электронной микроскопии имплантированных образцов титана (без напыления и с биокерамическим напылением) выявлено плотное заселение пористого биокерамического покрытия остеобластами с началом неосоостеогенеза, подобной картины на поверхности титана без биокерамического покрытия не отмечено.

На втором этапе экспериментальной работы использованы крупные лабораторные животных, близких по своим массо-габаритным характеристикам к человеку. Для оценки остеоиндуктивных и механически несущих потенциалов наноструктурированных покрытий титановых им-

плантов при остеосинтезе в области костного дефекта баранам выполняли остеотомию скуловой и локтевой костей. В послеоперационном периоде животные находились на стандартном пищевом и питьевом рационах. Положение титановых пластин в области остеосинтеза контролировалось непосредственно в день имплантации посредством рентгенологического исследования, контроль положения имплантов, а также окружающих тканей, проводился в сроки 4 и 6 недель после операции. При рентгенологическом исследовании отмечается отсутствие признаков воспаления, периостальных реакций, патологической подвижности соединяемых фрагментов костей, формирование полноценной костной мозоли. Через 4 и 6 недель после операции фрагменты опорных конструкций (скуловой и локтевой костей животного) хирургически удалялись и подвергались гистологическому исследованию. При сравнении с контрольной группой у животных с имплантированными титановыми наноструктурированными пластинами, через 4 недели в области перелома отмечается формирование костной мозоли с созреванием зрелой костной ткани, через 6 недель в области перелома отмечается выраженное формирование зрелой костной ткани без признаков нарушения целостности кости.

Таким образом нами разработана оптимальная экспериментальная модель для исследования механизмов остеоинтеграции и остеогенеза в области интеграции титановых имплантатов. Исследования методами световой микроскопии показали тенденцию к ускорению остеогенеза в окрестности имплантов, имеющих наноструктурные покрытия. Электронная микроскопия и иммуногистохимические исследования позволяют определить количественные характеристики остеогенеза и доказать преимущества имплантов с наноструктурными покрытиями. Полученные в эксперименте данные позволили перейти к ограниченным клиническим испытаниям титановых наноструктурированных пластин при остеосинтезе костных структур челюстно-лицевой зоны у онкологических больных. На базе отделения микрохирургии МНИОИ им. П.А.Герцена проведены ограниченные клинические испытания перфорированных титановых пластин для остеосинтеза в черепно-челюстно-лицевой хирургии производства ООО «Конмет» (ТУ 9438-003-11458417-2004) с использованием композиционных СВС мишеней $TiC_{0,5}+10\%Ca_{10}$ (ТУ 1984-015-11301236-2003) и $TiC_{0,5}+10\%Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (ТУ 1984-019-11301236-2005) производства ЗАО НПО «Металл». Испытания проведены на 20 пациентах находящихся на различных этапах специальной лечения. Операции по остеосинтезу посредством перфорированных титановых пластин производства ООО «Конмет» осуществлялись по комбинированной анестезией в асептических условиях операционного блока МНИОИ им.П.А.Герцена. Предварительно все образцы подвергались стерилизации в аппарате холодной плазменной обработки в парах перекиси водорода в течении 50 мин. после предварительной упаковки в контейнер «stericlin». Послеоперационный период оценивали: по клиническому течению раневого процесса (наличию отека и гиперемии слизистой оболочки в области хирургического вмешательства, состоятельности швов, общей температурной реакции организма), клинико-лабораторными показателями (общий анализ крови, биохимический анализ крови), рентгенологически – картина состояния области пластики костного дефекта и окружающих тканей). Во всех 20 случаях отмечено заживление операционной раны первичным натяжением; швы сняты на 10-14 сутки. Контрольный осмотр и рентгенологический контроль осуществляли согласно требованиям к срокам динамического наблюдения онкологических больных.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ И ГИПЕРТЕРМИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВНЫХ НЕРЕЗЕКТАБЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Светицкий П.В., Енгибарян М.А., Златник Е.Ю., Горошинская И.А., Светицкий А.П., Качесова П.С.

ФГБУ «РНИОИ» МЗ и СР РФ, Ростов-на-Дону

Лечение нерезектабельных опухолей (ОП), исчерпавших возможности химио-лучевой терапии, является одной из сложнейших проблем клинической онкологии. Возможности лучевой терапии у этих больных исчерпаны и лечение приобретает паллиативный характер.

Цель наших исследований: улучшить результаты лечения больных данной категории. В настоящее время, для потенцирования химиотерапии и облучения, используется гипертермия (ГТ), которая в основном осуществляется посредством электромагнитного (ЭМ) излучения. К сожалению, не всегда удается добиться желаемых результатов. Одна из главных причин заключается в том, что ОП ткань по своей структуре

неоднородная. Распространенные рецидивные раковые ОП включают некротическую ткань, рубцы и участки фиброза, особенно выраженные после облучения. Эти ткани проявляют свойства диэлектрика, что снижает эффективность электромагнитного воздействия и, следовательно – ГТ. В этом плане нас привлекли возможности использования свойств наночастиц (НЧ), не только как противоопухолевых агентов, но и для потенцирования модификатора химиотерапии – ГТ. Клиническому лечению предшествовали экспериментальные исследования.

Брались фрагменты ОП больных раком гортани, полости рта и шейных метастазов, которые обрабатывались и инкубировались с НЧ металла (Ag) в условиях ЭМ ГТ и без неё. После инкубации подсчитывали количество погибших клеток. Была установлена частичная гибель ОП клеток под воздействием только НЧAg и только ЭМ ГТ, тогда как при использовании ЭМ ГТ+НЧAg наблюдалась тотальная гибель ОП клеток.

Крысам с перевивной ОП (С-45) интрамурально вводилась суспензия НЧ железа, а паратуморально – антиметаболит (метотрексат), после чего ОП подвергались ЭМ ГТ. Другой группе животных проводили лечение без НЧ. Результаты исследований показали, что у животных подвергнутых ЭМ ГТ, ХТ и воздействию НЧ торможение роста ОП было в 2 раза выше, чем без включения НЧ.

Таким образом, *in vitro* НЧ металлов в условиях ГТ вызывают выраженный цитотоксический эффект на ОП клетки, а их сочетание с цитостатиком увеличивает торможение экспериментальных ОП. Исследования продолжаются.

ФЕМОСЕКУНДНАЯ ЛАЗЕРНАЯ МИКРОХИРУРГИЯ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОК И ДОИМПЛАТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНО В МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Шахбазян А., Karmenyan A., Кривохарченко А., Саркисов О.

Разработаны методы неинвазивной или малоинвазивной фемтосекундной лазерной микрохирургии и ее использование для получения индивидуальных эмбриональных стволовых клеток. Уникальная установка включает три лазера (непрерывный, фемтосекундный и полупроводниковый) и оснащена оборудованием, позволяющем использовать атомно-силовую микроскопию, регистрировать флуоресцентные спектры и интегральную люминесценцию, а также осуществлять непрерывную видео регистрацию в процессе лазерных процедур. Для подбора оптимальных условий проведения микрохирургических манипуляций, в установке отработана возможность изменения различных параметров лазерного луча (мощности излучения, длительности импульса, chirpирование импульса, экспозиция облучения).

Возможности новой фемтосекундной технологии микрохирургии продемонстрирована на различных примерах: многоскальпельной микрохирургии ядерных эритроцитов голубя и нейронов, слиянии клеток и ооцитов. Для примера на рис.1. показано слияние трех клеток (бластомеров) внутри 4-клеточного эмбриона.

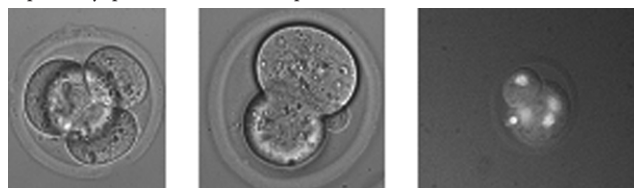


Рис. 1. Лазерное слияние с образованием трехядерных клеток внутри эмбриона.

Слева показан 4-клеточный эмбрион мыши с видимым контактом между тремя blastomeres. В середине эмбрион с одной нормальной и одной большой клеткой, образовавшейся после слияния трех blastomeres. Справа показана флуоресценция трех ядер с использованием витального красителя Hoeschst 33342. Флуоресценция свидетельствует, что разрушения ядер не произошло. Из рисунка видно, что мембрана также не разрушена. Сегодня основным методом слияния клеток является метод электрослияния. Этот метод может разрушать мембрану и не позволяет делать выбор клеток для слияния. В наших же экспериментах впервые в мире продемонстрировано лазерное слияние двух и трех клеток внутри 4-клеточного мышинного эмбриона без разрушения мембраны и жизнеспособности эмбриона.

Развиваемая лазерная микрохирургия использовалась для создания технологии получения индивидуальных эмбриональных стволовых клеток. В качестве источника цитопластов использовали яйцеклетки

(ооциты) на стадии метафазы II мышей, а в качестве источника донорских ядер использовали клетки кумулюса или фибробласты мышей. Ключевыми этапами клонирования являются: инактивация фемтосекундным лазерным излучением хромосомной пластинки ооцита; вырезание в блестящей мембране пространства для введения соматической клетки в перевителлиновое пространство; оптическое перемещение соматической клетки с нужным геномом до контакта с ооцитом; лазерное слияние ооцита с соматической клеткой. В результате получается реконструированный эмбрион с желаемым геномом. Развиваемая нами технология должна обеспечить эффективность так называемого процесса репрограммирования с последующим развитием реконструированного эмбриона. Новизна развиваемого подхода заключается в том, что все этапы проводятся только лазерными методами без использования механических, электрических и химических процедур.

МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ И МЕТАЛЛОКЕРАМИЧЕСКИЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ ПОКРЫТИЯ С КОНТРОЛИРУЕМЫМИ ТОПОГРАФИЕЙ, ОТКРЫТОЙ ПОРИСТОСТЬЮ И СОСТАВОМ ПОВЕРХНОСТИ

Штанский Д.В.1, Батенина И.В.1, Ядройцев И.А.2,
Ряшин Н.С.2, Кудряшов А.Е.1, Шейко А.Н.1,
Погожев Ю.С.1, Смуров И.Ю.2, Левашов Е.А.1

1 Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»,

2 Национальная Инженерная Школа Сент-Этьенна,

Возможность установления прочной микромеханической и химической связи между поверхностью искусственного имплантата и костной тканью является одной из важнейших характеристик современных биоматериалов, предназначенных для ортопедии, реконструкционной хирургии и стоматологии. Взаимодействие поверхности имплантата с окружающими тканями – сложный динамический процесс, эффективность которого во многом зависит от химических и топографических характеристик поверхности имплантата. Ранее было показано, что элементный состав поверхности имплантата играет важную роль на различных этапах взаимодействия остеобластов с их поверхностью, в то время как изменения рельефа поверхности в диапазоне $Sq=0.4-1$ мкм не оказывают существенного влияния на адгезию, пролиферацию и дифференцировку остеобластов [1].

Целью данной работы является получение и исследование покрытий с различным элементным составом и топографией поверхности в диапазоне среднеквадратичного значения шероховатости $Ra=1-100$ мкм. Для получения покрытий с различной шероховатостью поверхности использовались методы холодного газодинамического напыления (ХГН), селективного лазерного спекания (СЛС) и электроискрового легирования (ЭИЛ). Для изменения элементного состава, на поверхность образцов осаждалось многокомпонентное биоактивное наноструктурированное покрытие (МБНП) методом магнетронного распыления (МР) композиционной мишени.

В процессе ХГН на обрабатываемую поверхность сверхзвуковым потоком газа (500-1000 м/с) нагретым до температуры 250-500°C наночастицы порошка титана марки Grade 2 с размером частиц 20-35 мкм. За счет реализации низких температур метод ХГН исключает окисление расплавленного материала, что позволило получить однородные поверхности в широком диапазоне параметра $Ra=4-80$ мкм. Методом ЭИЛ за счет электрической эрозии и полярного переноса материала с анода (электрода) на катод (подложка-имплантат) при протекании импульсных разрядов в газовой среде были получены покрытия с шероховатостью $Ra=3-8$ мкм. В методе СЛС порошок материал послойно спекался лазерным излучением. За счет варьирования расстояния между треками методом СЛС были получены покрытия с различной открытой пористостью.

Топография поверхности покрытий, полученных методами ХГН, ЭИЛ и СЛС показана на рисунке 1.

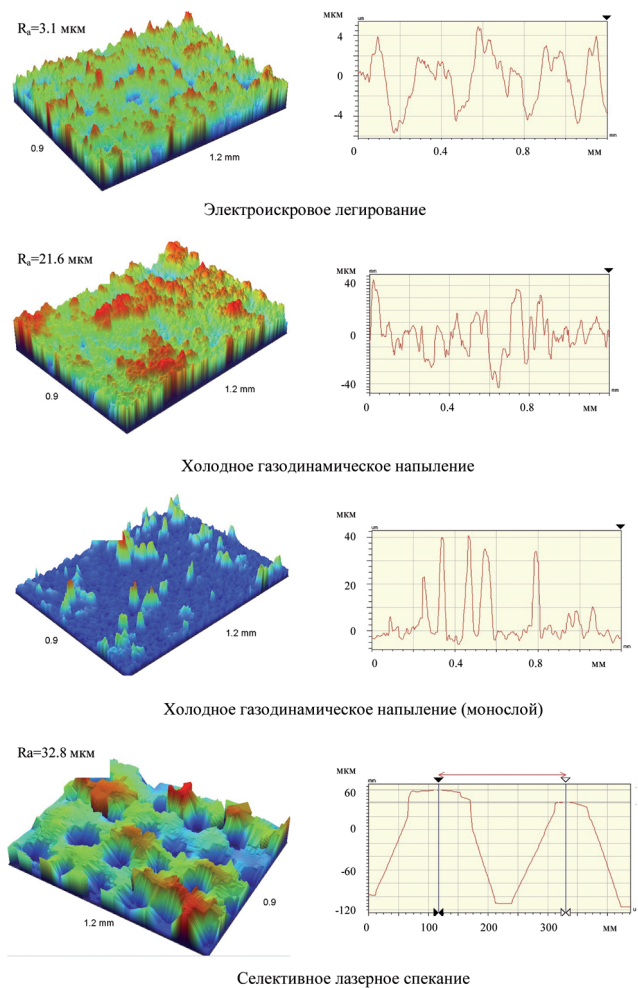


Рис. 1. Топография поверхности покрытий

С целью изменения химического состава поверхности при сохранении заданной топографии использовался метод магнетронного распыления композиционных мишеней, позволяющий наносить тонкий поверхностный слой МБНП. Это покрытие повторяет рельеф ранее сформированной поверхности. В настоящей работе в качестве финишного поверхностного слоя использовалось покрытие $TiCaPCON$, которое обладает хорошими биологическими характеристиками [2].

Показано, что комбинация методов ХГН, СЛС, ЭИЛ и МР позволяет получать биосовместимые покрытия с контролируемой топографией, открытой пористостью и составом поверхности. Данные материалы предназначены для последующего изучения адгезии, пролиферации и дифференцировки остеобластов.

Работы выполнены при финансовой поддержке Минобрнауки (ГК 16.513.11.3092).

1. Д. В. Штанский, И.Ю. Житняк, И. А. Башкова, Ю.С. Погожев, А.Н. Шейко, Н. А. Глушанкова, Биологические мембраны, издательство "Наука-Interperiodica", 27(4) (2010) 325-330.

2. D.V. Shtansky, N.A. Gloushankova, I.A. Bashkova, M.A. Kharitonova, T.G. Moizhess, A.N. Sheveiko, F.V. Kiryukhantsev-Korneev, M.I. Petrzhik, E.A. Levashov, Biomaterials, 27 (2006) 3519-3531.