



ISSN (print) 2073-7556  
ISSN (online) 2686-7303

# К ОЛОПРОКТОЛОГИЯ

рецензируемый научно-практический медицинский журнал

## Koloproktologia

Peer-Reviewed Scientific and Practical Journal

ТОМ 19, № 4, 2020

vol. 19, no. 4, 2020



Релиф® ПРО – быстрый анестетик<sup>1</sup> и сильный стероид<sup>2</sup> для лечения острого геморроя.

Релиф® Про – ЗДЕСЬ и СЕЙЧАС

Флуокортолона пивалат  
Сильный топический стероид<sup>2</sup>

Лидокаин  
Анестетик<sup>1</sup> быстрого действия

**Релиф® Про.** Крем ректальный/суппозитории ректальные. **МНН или группировочное название:** флуокортолон + лидокаин. **Показания:** геморрой, проктит, экзема в области ануса (для крема ректального). **Способ применения и дозы:** применять после проведения гигиенических процедур. Продолжительность лечения не должна превышать 2 недели. Крем ректальный следует наносить дважды в день: утром и вечером. В первые дни лечения крем можно наносить три раза в день. По мере облегчения симптомов часто бывает достаточно одной аппликации в день. Суппозитории ректальные - по одному суппозиторию вводят глубоко в задний проход два раза в день, утром и вечером, при тяжелой форме заболевания первые три дня вводят по одному суппозиторию три раза в день. При стабильном улучшении достаточно вводить по одному суппозиторию в сутки или через день. При сильно воспаленных и болезненных геморроидальных узлах, рекомендуется начинать лечение с крема. **Противопоказания:** туберкулезный и сифилитические процессы в области нанесения препарата; вирусные заболевания (например, ветряная оспа, реакция на вакцинацию, опоясывающий лишай) в области нанесения препарата; лечение детей и подростков; I триместр беременности; повышенная чувствительность к компонентам препарата. **Беременность и лактация:** следует назначать с осторожностью, необходимо сопоставлять ожидаемую пользу лечения для матери с возможным риском для плода и младенца. В период беременности и лактации препарат должен использоваться непродолжительное время. **Побочное действие:** жжение; редко - раздражение и аллергические реакции. При продолжительном лечении (более четырех недель) существует риск развития местных изменений кожи, таких как атрофия, стрии или телеангиэктазии. **Особые указания:** Пациенты, получающие противоаритмические препараты, должны применять лидокаин с осторожностью. При наличии грибковых инфекций в дополнение требуется проведение соответствующей противогрибковой терапии. **Условия отпуска:** по рецепту. Рег. номер крем ректальный: ЛСР-005202/09. Рег. номер суппозитории ректальные: ЛСР-005203/09, инструкция по применению от 21.02.2017. Полную информацию смотрите в инструкции по применению. АО «БАЙЕР», Россия, 107113, г. Москва, 3-я Рыбинская ул., д. 18, стр. 2.

1. Covino BG. Pharmacology of local anaesthetic agents. Br J Anaesth. 1986 Jul;58(7): 701-16.

2. Флуокортолона пивалат относится к классу сильных топических ГКС, согласно классификации Миллера-Монро (1980), с изменениями и дополнениями. Tauber U: Dermocorticosteroids – structure, activity, pharmacokinetics. Eur J Dermatol 1994; 4: 419-429.

ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ

АО «БАЙЕР», Россия, 107113 Москва, ул. 3-я Рыбинская, д. 18, стр. 2. Тел.: +7 (495) 231-12-00, факс +7 (495) 231-12-02.  
L.RU.MKT.CC.01.2019.2555

Общероссийская общественная организация  
«Ассоциация колопроктологов России»



# КОЛОПРОКТОЛОГИЯ

том 19, № 4 (74), 2020

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ  
ОБЩЕРОССИЙСКОЙ ОБЩЕСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ  
«АССОЦИАЦИЯ КОЛОПРОКТОЛОГОВ РОССИИ»

Выходит один раз в три месяца. Основан в 2002 году.

**Адрес редакции и издателя-учредителя:**

ул. Саляма Адила, д. 2, Москва, 123423

Тел./факс: (499) 199-00-68

E-mail: [proctologia@mail.ru](mailto:proctologia@mail.ru)

[koloproktologia@akr-online.ru](mailto:koloproktologia@akr-online.ru)

**САЙТ ЖУРНАЛА:**

[www.ruproctology.com](http://www.ruproctology.com)

**АРХИВ ЖУРНАЛА:**

[www.akr-online.ru](http://www.akr-online.ru)

[www.new.gnck.ru](http://www.new.gnck.ru)

<https://doi.org/10.33878/2073-7556>

Электронная версия журнала также  
представлена на сайте научной электронной  
библиотеки по адресу: <http://elibrary.ru/>

**Ответственный секретарь:**

Рыбаков Е.Г.

E-mail: [proctologia@mail.ru](mailto:proctologia@mail.ru)

**Зав. редакцией и выпускающий редактор:**

Поликарпова Е.Е.

Тел.: (499) 199-00-68

Журнал зарегистрирован федеральной  
службой по надзору в сфере связи,  
информационных технологий и массовых  
коммуникаций

**Регистрационное удостоверение**

ПИ № 77-14097

Журнал включен в каталог «Газеты и журналы»  
агентства «Роспечать»

**Индекс: 80978**

для индивидуальных подписчиков

**Журнал индексируется:**

- Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)
- Russian Science Citation Index (RSCI)  
на платформе Web of Science

При размещении рекламы редакция  
руководствуется рекламной политикой

Подписано в печать 09.12.2020

Формат 200 × 280 мм

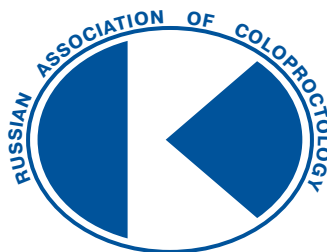
Усл. печ. л. 28,00

Тираж 1000 экз. Заказ № 175-20

Отпечатано в ООО «Кедр».

119021, Москва, Зубовский бульвар, д. 21-23, стр. 1

Информация о стоимости экз. – «Свободная цена»



# KOLOPROKTOLOGIA

vol. 19, № 4 (74), 2020

JOURNAL OF RUSSIAN  
ASSOCIATION OF COLOPROCTOLOGY

ISSN 2073-7556

Quarterly since 2002 year

## EDITORIAL OFFICE

Salyama Adilya Str., 2, Moscow, Russia, 123423

Phone & fax: +7 (499) 199-00-68

E-mail: [proctologia@mail.ru](mailto:proctologia@mail.ru)  
[koloproktologia@akr-online.ru](mailto:koloproktologia@akr-online.ru)

<https://doi.org/10.33878/2073-7556>

<http://www.ruproctology.com>

<http://akr-online.ru>

<http://www.new.gnck.ru>

<http://elibrary.ru/>

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media.

## Certificate of registration PI

no. 77-14097

## The journal is presented in the following research databases:

- Russian Science Citation Index (RSCI), integrated in Web of Science

When placing ads, the editorial Board of the journal is guided by the advertising policy

Signed to the press on 09.12.2020

Print format 200 × 280 mm

Circulation 1000 copies

Printed by «Kedr» LLC

Information about the cost of a copy – free price



## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

### Главный редактор

**ШЕЛЫГИН Ю.А.**, д.м.н., профессор, академик РАН, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России) (Москва, Россия)

### Заместитель главного редактора

**АЧКАСОВ С.И.**, д.м.н., профессор, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**БЕЛОУСОВА Е.А.**, д.м.н., профессор, ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия)

**БЛАГОДАРНЫЙ Л.А.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Москва, Россия)

**ГОЛОВЕНКО О.В.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Москва, Россия)

**ГРИГОРЬЕВ Е.Г.**, д.м.н., профессор, академик РАН, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иркутск, Россия)

**ГРОШИЛИН В.С.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия)

**КАРАЧУН А.М.**, д.м.н., профессор, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**КАРПУХИН О.Ю.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

**МОРОЗОВ Д.А.**, д.м.н., профессор, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

**МУРАВЬЕВ А.В.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ

ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (Ставрополь, Россия)

**ОМЕЛЬЯНОВСКИЙ В.В.**, д.м.н., профессор, ФГБУ «Центр экспертизы и контроля качества медицинской помощи» Минздрава России (Москва, Россия)

**ПОДДУБНЫЙ И.В.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (Москва, Россия)

**ПОЛОВИНКИН В.В.**, д.м.н., профессор, ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края (Краснодар, Россия)

**РАЗУМОВСКИЙ А.Ю.**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Москва, Россия)

**РЫБАКОВ Е.Г.**, д.м.н., профессор РАН, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ТИМЕРБУЛАТОВ В.М.**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Уфа, Россия)

**ФРОЛОВ С.А.**, д.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ЧИССОВ В.И.**, д.м.н., профессор, академик РАН, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

**DZIKI A.**, профессор, Medical University of Lodz (Лодзь, Польша)

**НАВОУИ N.**, профессор, University Hospital of South Manchester NHS Foundation Trust (Манчестер, Великобритания)

**KRIVOKAPIC Z.**, профессор, Academician of Serbian Academy of Science, University of Belgrade (Белград, Сербия)

**MROCKOWSKI P.**, профессор, руководитель клиники общей, висцеральной и онкологической хирургии, DRK-Kliniken Nordhessen Gemeinnutzige GmbH, Standort Wehlheiden (Кассель, Германия)

**PANIS Y.**, профессор, Université Paris VII (Париж, Франция)

**ROMANO G.**, профессор, National Cancer Institute G. Pascale (Неаполь, Италия)

**SANTORO G.**, профессор, University of Padua (Тревизо, Италия)

**SZCZEPKOWSKI M.**, профессор, Centre of Postgraduate Medical Education in Warsaw (Варшава, Польша)

**TAMELIS A.**, профессор, Lithuanian University of Health Sciences (Каунас, Литва)

**ZBAR A.**, профессор, University of Melbourne (Мельбурн, Австралия)

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

**АЛИЕВ Ф.Ш.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России (Тюмень, Россия)

**ВАСИЛЬЕВ С.В.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**ВЕСЕЛОВ А.В.**, к.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ВЕСЕЛОВ В.В.**, д.м.н., профессор, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ЗАРОДНИК И.В.**, д.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ИЩЕНКО В.Н.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Владивосток, Россия)

**КАТОРКИН С.Е.**, д.м.н., ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

**КАШНИКОВ В.Н.**, д.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**КОСТЕНКО Н.В.**, д.м.н., профессор,

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России (Астрахань, Россия)

**КУЗЬМИНОВ А.М.**, д.м.н., профессор, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**КУЛИКОВСКИЙ В.Ф.**, д.м.н., профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (Белгород, Россия)

**МАЙНОВСКАЯ О.А.**, к.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**МОСКАЛЕВ А.И.**, к.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ОРЛОВА Л.П.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия)

**ПУГАЕВ А.В.**, д.м.н., профессор, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

**СТОЙКО Ю.М.**, д.м.н., профессор, ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

**ТИТОВ А.Ю.**, д.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ТОТИКОВ В.З.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ

ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России (Владикавказ, Россия)

**ФЕДЯНИН М.Ю.**, д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**ХУБЕЗОВ Д.А.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Рязань, Россия)

**ЧЕРДАНЦЕВ Д.В.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф.

В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (Красноярск, Россия)

**ЧЕРКАСОВ М.Ф.**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (Ростов-на-Дону, Россия)

**ШАПИНА М.В.**, к.м.н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва, Россия)

**ЯИЦКИЙ Н.А.**, д.м.н., профессор, академик РАН, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**SKŘIČKA T.**, профессор, Medical Faculty, Masaryk University Brno (Брно, Чехия)

## EDITORIAL BOARD

### EDITOR-IN-CHIEF

**SHELYGIN Yu.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., academician of RAS, Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

### CO-EDITOR

**ACHKASOV S.I.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**BELOUSOVA E.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russia)

**BLAGODARNY L.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

**CHISSOV V.I.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., academician of RAS, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

**DZIKI A.**, MD, Prof., Medical University of Lodz (Lodz, Poland)

**FROLOV S.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**GOLOVENKO O.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

**GRIGOR'EV E.G.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., academician of RAS, Irkutsk State Medical University (Irkutsk, Russia)

**GROSHILIN V.S.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia)

**HABOUBI N.**, MD, Prof., University Hospital of South Manchester NHS Foundation Trust (Manchester, Great Britain)

**KARACHUN A.M.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint-Petersburg, Russia)

**KARPUKHIN O.Yu.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Kazan National Medical University (Kazan, Russia)

**KRIVOKAPIČ Z.**, MD, Prof., Academician of Serbian Academy of Science, University of Belgrade (Belgrade, Serbia)

**MOROZOV D.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

**MROCKOWSKI P.**, MD, Prof., Chief of the general, visceral and oncology surgery clinic, DRK-Kliniken Nordhessen Gemeinnützige GmbH, Standort Wehlheiden (Kassel, Germany)

**MURAVIEV A.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Stavropol State Medical University (Stavropol, Russia)

**OMEL'YANOVSKIY V.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., The Center of Healthcare Quality Assessment and Control of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

**PANIS Y.**, MD, Prof., Université Paris VII (Paris, France)

**PODDUBNY I.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

**POLOVINKIN V.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Regional Clinical Hospital No 1 named after S.V. Ochapovsky (Krasnodar, Russia)

**RAZUMOVSKY A.Yu.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Pirogov National Research Medical University (Moscow, Russia)

**ROMANO G.**, MD, Prof., National Cancer Institute G. Pascale (Naples, Italy)

**RYBAKOV E.G.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof. of RAS, Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**SANTORO G.**, MD, Prof., University of Padua (Treviso, Italy)

**SZCZEPKOWSKI M.**, MD, Prof., Centre of Postgraduate Medical Education in Warsaw (Warsaw, Poland)

**TAMELIS A.**, MD, Prof., Lithuanian University of Health Sciences (Kaunas, Lithuania)

**TIMERBULATOV V.M.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., academician of RAS, Bashkir State Medical University (Ufa, Russia)

**ZBAR A.**, MD, Prof., University of Melbourne (Melbourne, Australia)

## ADVISORY BOARD

**ALIEV F.Sh.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Tyumen State Medical University (Tyumen, Russia)

**CHERDANTSEV D.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia)

**CHERKASOV M.F.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia)

**FEDYANIN M.Yu.**, Dr. of Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia)

**ISHCHENKO V.N.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Pacific State Medical University (Vladivostok, Russia)

**KASHNIKOV V.N.**, Dr. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**KATORIKIN S.E.**, Dr. of Sci. (Med.), Samara State Medical University (Samara, Russia)

**KHUBEZOV D.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Ryazan State Medical University (Ryazan, Russia)

**KOSTENKO N.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Astrakhan State Medical University (Astrakhan, Russia)

**KULIKOVSKY V.F.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Belgorod State Medical University (Belgorod, Russia)

**KUZMINOV A.M.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**MAINOVSKAYA O.A.**, Cand. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**MOSKALEV A.I.**, Cand. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**ORLOVA L.P.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**PUGAEV A.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

**SHAPINA M.V.**, Cand. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**SKŘIČKA T.**, MD, Prof., Medical Faculty, Masaryk University Brno (Brno, Czech Republic)

**STOIKO Yu.M.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof.,

Pirogov National Medical Surgery Center (Moscow, Russia)

**TITOV A.Y.**, Dr. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**TOTIKOV V.Z.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., North Osetia State Medical Academy (Vladikavkaz, Russia)

**VASILIEV S.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint-Petersburg, Russia)

**VESELOV A.V.**, Cand. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**VESELOV V.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

**YAITSKI N.A.**, Dr. of Sci. (Med.), Prof., academician of RAS, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint-Petersburg, Russia)

**ZARODNUK I.V.**, Dr. of Sci. (Med.), Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow, Russia)

Научно-практический медицинский журнал издается Общероссийской общественной организацией «Ассоциация колопроктологов России». Целевой аудиторией журнала являются колопроктологи, онкологи, гастроэнтерологи, общие хирурги, урологи, врачи-УЗД, эндоскописты, а также врачи смежных специальностей – патологоанатомы, патофизиологи, врачи клинической лабораторной диагностики. Журнал освещает последние достижения медицинской науки в области диагностики и лечения заболеваний ободочной и прямой кишки, анального канала и промежности.

Данное периодическое издание является площадкой для размещения оригинальных статей и наблюдений из клинической практики, систематических обзоров и мета-анализов. Представлены проблемные материалы международных и российских конференций, оригинальные работы специалистов из стран СНГ и дальнего зарубежья.

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

**ШЕЛЫГИН Юрий Анатольевич (Москва, Россия)** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор, зав.кафедрой колопроктологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Президент Общероссийской общественной организации «Ассоциация колопроктологов России», главный внештатный специалист-колопроктолог Министерства здравоохранения РФ, лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, Председатель диссертационного совета 208.021.01

**SPIN-код:** 7989-8228

**Author ID:** 480259

**ORCID:** 0000-0002-8480-9362

**SCOPUS:** ID 6602949973

## ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

**АЧКАСОВ Сергей Иванович (Москва, Россия)** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель отдела онкологии и хирургии ободочной кишки, член Всемирной Ассоциации университетских колоректальных хирургов, член правления Общероссийской общественной организации «Ассоциация колопроктологов России», Лауреат премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники

**SPIN-код:** 5467-1062

**Author ID:** 265142

**ORCID:** 0000-0001-9294-5447

**SCOPUS:** ID 6603349645

## ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

**РЫБАКОВ Евгений Геннадьевич (Москва, Россия)** – доктор медицинских наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель отдела онкопроктологии, Ответственный секретарь журнала «Колопроктология», член правления Ассоциации колопроктологов России, попечительского совета European Society of Coloproctology (ESCP), Лауреат Премии Правительства РФ в области науки и техники

**SPIN-код:** 9599-3390

**Author ID:** 676063

**SCOPUS:** ID 6602247157

The scientific and practical medical journal is published by the all-Russian public organization «Association of Coloproctologists of Russia». The target audience of the journal are coloproctologists, oncologists, gastroenterologists, general surgeons, and endoscopists. The journal covers the latest achievements of medical science in the diagnosis and treatment of diseases of the colon and rectum, anal canal and perineum.

This periodical is a platform for posting original articles and observations from clinical practice, systematic reviews and meta-analyses. The problematic materials of international and Russian conferences, original works of specialists from CIS countries and abroad are presented.

## CHIEF EDITOR

**SHELYGIN Yuri (Moscow, Russia)** – MD, Professor, academician of RAS, President of the All-Russian public organization «Russian Association of Coloproctology», Director of the Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

**SPIN-код:** 7989-8228

**Author ID:** 480259

**ORCID:** 0000-0002-8480-9362

**SCOPUS:** ID 6602949973

## CO-EDITOR

**ACHKASOV Sergei (Moscow, Russia)** – MD, Professor, head of oncology and surgery of the colon at the Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

**SPIN-код:** 5467-1062

**Author ID:** 265142

**ORCID:** 0000-0001-9294-5447

**SCOPUS:** ID 6603349645

## EXECUTIVE SECRETARY

**RYBAKOV Evgeny (Moscow, Russia)** – MD, professor of RAS, Head of oncology department at the Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

**SPIN-код:** 9599-3390

**Author ID:** 676063

**SCOPUS:** ID 6602247157

*Решением Высшей Аттестационной Комиссии (ВАК) Министерства образования и науки Российской Федерации научно-практический медицинский журнал «Колопроктология» включен в новый «Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендуемых ВАК, для публикации основных научных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по научным специальностям: 14.01.12 – Онкология (медицинские науки); 14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки); 14.01.17 – Хирургия (медицинские науки); 14.01.19 – Детская хирургия (медицинские науки); 14.03.02 – Патологическая анатомия (медицинские науки); 14.01.28 – Гастроэнтерология (медицинские науки) (№ 1176 по состоянию на 28.12.18; 15.10.19).*

Приглашаем авторов публиковать различные материалы клинической направленности: оригинальные статьи, обзоры, лекции, случаи из практики.

---

# СОДЕРЖАНИЕ

---

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

*Штыркова С.В., Клясова Г.А., Караголян С.Р., Гемджян Э.Г., Данишян К.И.*

ОСОБЕННОСТИ ПЕРИАНАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ  
ГРАНУЛОЦИТОПЕНИЕЙ И ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ  
КРОВИ (Рус./Eng.) . . . . . 10

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

*Назарова И.В., Никифорова Н.С., Сидина Е.И., Слюсаренко М.А., Котова З.С.,  
Семиглазова Т.Ю., Служев М.А., Семиглазов В.В., Гоголев А.Б., Артемьева А.С., Рыбаков Е.Г.,  
Малек А.В.*

ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА С ПОМОЩЬЮ ДЕТЕКЦИИ  
ТКАНЕ-СПЕЦИФИЧНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ НАНО-ВАЗИКУЛ (Рус./Eng.) . . . . . 32

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

ООО «Онко-система»

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России

ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России

ФГБУ «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»

*Богданова Е.М., Орлова Л.П., Трубачева Ю.Л., Хомяков Е.А., Рыбаков Е.Г.*

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С КОНТРАСТНЫМ  
УСИЛЕНИЕМ В ДИАГНОСТИКЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ПРЯМОЙ КИШКИ (Рус./Eng.) . . . . . 57

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России

*Шелыгин Ю.А., Сухина М.А., Набиев Э.Н., Пономаренко А.А., Нагудов М.А., Сушков О.И.,  
Москалев А.И., Ачкасов С.И..*

НЕЙТРОФИЛЬНО-ЛИМФОЦИТАРНОЕ ОТНОШЕНИЕ КАК БИОМАРКЕР ИНФЕКЦИОННЫХ  
ОСЛОЖНЕНИЙ В КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ ХИРУРГИИ (собственные данные, систематический обзор и  
метаанализ) (Рус./Eng.) . . . . . 71

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России

*Завьялов Д.В., Кашин С.В.*

СОВРЕМЕННЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТРИСУЛЬФАТА ПРИ ПОДГОТОВКЕ К КОЛОНОСКОПИИ  
С ПОЗИЦИИ КЛИНИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ . . . . . 93

ГБУЗ Ярославской области «Клиническая онкологическая больница»

## КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

*Уваров И.Б., Мануйлов А.М., Сичинава Д.Д.*

ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЕ И ТРАНСАНАЛЬНОЕ ВАКУУМНОЕ ДРЕНИРОВАНИЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО АНАСТОМОЗА (клинический случай) . . . . . 100

ФГБОУ «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России

ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства здравоохранения Краснодарского края

*Шахматов Д.Г., Сайфутдинова К.Р., Елигулашвили Р.Р., Муратов И.И.*

ГЕМИКОЛЭКТОМИЯ С РАСШИРЕННОЙ ЛИМФОДИССЕКЦИЕЙ ПРИ ОБРАТНОМ  
РАСПОЛОЖЕНИИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ (клинические наблюдения) . . . . . 107

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России

ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

---

# СОДЕРЖАНИЕ

---

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ, МЕТААНАЛИЗ

*Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.*

**АНОПЛАСТИКА И БОКОВАЯ ПОДКОЖНАЯ СФИНКТЕРОТОМИЯ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АНАЛЬНОЙ ТРЕЩИНЫ (систематический обзор литературы и метаанализ) (Рус./Eng.) . . . . . 115**

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России

*Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Тюляндин С.А.*

**ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОГНОЗ У ПАЦИЕНТОВ С КАНЦЕРОМАТОЗОМ БРЮШИНЫ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ (обзор литературы) . . . . . 131**

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

*Чернышов С.В., Сычев С.И., Пономаренко А.А., Рыбаков Е.Г.*

**ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИЕ РЕЗЕКЦИИ С ТРАНСАНАЛЬНЫМ УДАЛЕНИЕМ ПРЕПАРАТА В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ (систематический обзор литературы и метаанализ) (Рус./Eng.) . . . . . 150**

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России

*Шубин В.П., Ачкасов С.И., Сушков О.И., Цуканов А.С.*

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОМ КАРЦИНОМАТОЗЕ И МЕТАСТАЗАХ РАКА В ПЕЧЕНИ (обзор литературы) . . . . . 177**

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России

## НОВОСТИ

**НЕКРОЛОГ. Куликовский В.Ф. . . . . . 188**

---

# CONTENTS

---

## ORIGINAL ARTICLES

- Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Karagyulyan S.R., Gemdzhian E.G., Ntanishyan K.I.*  
PERIANAL INFECTIOUS COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH GRANULOCYTOPENIA  
AND HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES (Rus./Eng.) ..... 10  
National Research Center for Hematology

- Nazarova I.V., Nikiforova N.S., Sidina E.I., Slyusarenko M.A., Kotova Z.S., Semiglazova T.Yu.,  
Sluzhev M.A., Semiglazov V.V., Gogolev A.B., Artemyeva A.S., Rybakov E.G., Malek A.V.*  
COLORECTAL CANCER DIAGNOSTICS VIA DETECTION OF TISSUE-SPECIFIC EXTRACELLULAR  
NANO-VESICLES (Rus./Eng.) ..... 32  
N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology  
Onco-System Co Ltd.  
Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology  
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov  
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

- Bogdanova E.M., Orlova L.P., Trubacheva Yu.L., Khomyakov E.A., Rybakov E.G.*  
THE FIRST EXPERIENCE OF CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND IN EPITHELIAL  
RECTAL TUMORS (Rus./Eng.) ..... 57  
Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

- Shelygin Yu.A., Sukhina M.A., Nabiev E.N., Ponomarenko A.A., Nagudov M.A., Moskalev A.I.,  
Sushkov O.I., Achkasov S.I.*  
NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE RATIO AS AN INFECTIOUS COMPLICATIONS BIOMARKER IN  
COLORECTAL SURGERY (own data, systematic review and meta-analysis) (Rus./Eng.) ..... 71  
Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

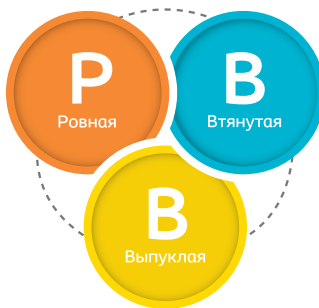
- Zavyalov D.V., Kashin S.V.*  
CURRENT PRACTICE OF TRISULFATE APPLYING FOR BOWEL CLEANSING IN ACCORDING TO  
CLINICAL SAFETY POSITIONS. .... 93  
State Budgetary Healthcare Institution of the Yaroslavl Region "Clinical Oncology Hospital"

## CASE REPORT

- Uvarov I.B., Manuylov A.M., Sichinava D.D.*  
INTRAABDOMINAL AND TRANSANAL VACUUM DRAINAGE FOR COLORECTAL ANASTOMOSIS  
LEAKAGE (case report) ..... 100  
Kuban State Medical University of Ministry of Health of Russia  
Regional Oncological Center of Krasnodar

- Shakhmatov D.G., Saifutdinova K.R., Eligulashvili R.R., Muratov I.I.*  
HEMICOLECTOMY WITH EXTENDED LYMPH NODE DISSECTION IN PATIENT WITH SITUS  
VISCERUM INVERSUS (case report) ..... 107  
Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology  
Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of Russia





## Оценка перистомальной области — основа для подбора средств ухода за стомой

### Шаг 1. Оцените форму перистомальной области

	<p><b>Ровная</b></p> <p>Перистомальная область расположена приблизительно на одном уровне с поверхностью передней брюшной стенки, при этом кожа вокруг стомы может быть негладкой, складчатой.</p>	<p>Калоприемники AlternA® с плоской пластиной</p>
	<p><b>Втянутая</b></p> <p>Перистомальная область углублена во внутрь живота, образуя воронку.</p>	<p>Конвексные пластины AlternA®, Моделируемое защитное кольцо Brava® или паста в полоске Brava®, пояс AlternA®</p>
	<p><b>Выпуклая</b></p> <p>Перистомальная область выпячена наружу, выступает над уровнем поверхности передней брюшной стенки.</p>	<p>Калоприемники AlternA® с плоской пластиной Эластичная пластина-полукольцо Brava®</p>

**Сделай правильный выбор с руководством по подбору средств ухода за стомой!**

Центр поддержки пациентов «Колопласт»

**8 800 700 11 26**

Звонок бесплатный

пн.-чт. с 08:00 до 20:00; пт. с 08:00 до 18:45 по московскому времени

[info@coloplast.ru](mailto:info@coloplast.ru)

[www.coloplast.ru](http://www.coloplast.ru)

**PENTAX**  
MEDICAL



Авторизованный сервисный центр  
Официальный дистрибьютор

**Boston  
Scientific**

Официальный дистрибьютор  
в России

NEW

**SpyGlass™ DS**

Видеохолодохоскопия



**Acquire™**

EUS игла  
для тонкоигольной  
БИОПСИИ  
(гистология)

NEW



**Endomed**

8-800-100-17-61

WWW.ENDOMED.BIZ  
OFFICE@ENDOMED.BIZ

**Endomed**

Инсуффлятор и ирригатор



Совместимы с эндоскопами:

Pentax, Olympus, Fujifilm, SonoScape,  
Aohua

**OMOM®**

Капсульная эндоскопия

Высокое качество изображения по  
самой доступной **ЦЕНЕ** в России



---

# CONTENTS

---

## REVIEW

*Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.*

ANOPLASTY AND LATERAL INTERNAL SPHINCTEROTOMY FOR CHRONIC ANAL FISSURE  
(systematic review and meta-analysis) (Rus./Eng.) ..... 115

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

*Fedyanin M.Yu., Tryakin A.A., Ter-Ovanesov M.D., Tyulyandin S.A*

DIAGNOSTICS, TREATMENT AND PROGNOSIS IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER AND  
PERITONEAL CARCINOMATOSIS (review) ..... 131

Oncological department of chemotherapy #2 in Federal State Budgetary Institution «N.N.Blokhin National Medical Research Center of  
Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation

*Chernyshov S.V., Sychev S.I., Ponomarenko A.A., Rybakov E.G.*

LAPAROSCOPIC RESECTIONS WITH TRANSANAL SPECIMEN EXTRACTION IN RECTAL CANCER  
SURGERY (a systematic review and meta-analysis) (Rus./Eng.) ..... 150

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

*Shubin V.P., Achkasov S.I., Sushkov O.I., Tsukanov A.S.*

MOLECULAR-GENETIC FEATURES OF COLORECTAL TUMORS IN PERITONEAL CARCINOMATOSIS  
AND LIVER METASTASES (review) ..... 177

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology

## NEWS

**Kulikovskiy V.F.** ..... 188

### Уважаемые читатели!

Архив журнала «Колопроктология» за 2002-2020 гг.  
находится в открытом (бесплатном) доступе на сайтах:

- ◇ [www.ruproctology.com](http://www.ruproctology.com)
- ◇ Общероссийской общественной организации  
«Ассоциация колопроктологов России» – <http://akr-online.ru/>
- ◇ ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России –  
<http://www.new.gnck.ru/>
- ◇ Научной электронной библиотеки – <http://www.elibrary.ru/>

# ОСОБЕННОСТИ ПЕРИАНАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОПЕНИЕЙ И ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ

Штыркова С.В., Клясова Г.А., Карагюлян С.Р., Гемджян Э.Г., Данишян К.И.

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (Новый Зыковский проезд, д.4, г. Москва, 125167, Россия)

**ЦЕЛЬ:** изучить особенности периаанальной инфекции (ПИ) у пациентов с гранулоцитопенией (ГЦП) и опухолевыми заболеваниями системы крови.

**ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:** в проспективное исследование (2016-2018 гг.) включено 95 эпизодов ПИ у 76 пациентов с опухолевыми заболеваниями системы крови (м/ж – 35/44; медиана возраста – 35 лет (17-69)). Диагноз «острый лейкоз» установлен у 43 (54,4%) пациентов (ОМЛ – 34 (43%); ОЛЛ – 9 (11,4) %), неходжкинская лимфома – у 17 (21,5%). Выполнено сравнение эпизодов ПИ, развившихся в период ГЦП (количество гранулоцитов менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ ) и вне этого периода.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** эпизоды ПИ в период ГЦП регистрировали статистически значимо чаще, чем без ГЦП (77,9% против 22,1%, относительный риск – 3,5 (95% ДИ: 2,4-5,2)). Наибольшее количество эпизодов ПИ на фоне ГЦП отмечено в период проведения химиотерапии (ХТ): на этапах консолидации (28,4%) и индукции (13,3%) ХТ острых лейкозов и ХТ лимфом – 20,3%.

Источником инфицирования периаанальных тканей в период ГЦП чаще были анальные трещины (66,2% против 19,1% без ГЦП,  $p < 0,001$ ). Воспалительные изменения в параректальных тканях были клиническими признаками ПИ при ГЦП в 89,2% случаев: инфильтраты в 71,6% (против 23,8% без ГЦП,  $p < 0,001$ ), абсцессы в 8,1% (против 66,7% без ГЦП,  $p < 0,001$ ). В 10,8% случаев ПИ при ГЦП регистрировались только боли в периаанальной области и лихорадка. Отсутствие изменений в тканях было при самом низком количестве лейкоцитов ( $Me 0,2 (0,1-0,5) \times 10^9/\text{л}$ ). Инфекции кровотока выявлены в 15 (20,3%) эпизодах только в период ГЦП, из них в 6 (8,1%) случаях отмечено видовое соответствие микроорганизмов, выделенных из крови и прямой кишки.

В период ГЦП антибактериальная терапия проводилась в 98,6% наблюдений: только антибактериальная терапия применялась в 87,8% эпизодов (против 7,2% без ГЦП,  $p < 0,001$ ); оперативное лечение и антибактериальная терапия – в 10,8% (против 61,9% без ГЦП,  $p < 0,001$ ). У пациентов с ГЦП средняя продолжительность применения антибиотиков была существенно больше в группе оперированных больных, чем в группе пролеченных консервативно (25,5 против 15,1 дней,  $p = 0,05$ ). Результатом антибактериальной терапии в период ГЦП в 83,1% случаев был регресс признаков воспаления; в 13,8% – формирование абсцесса или свища, потребовавшее хирургического лечения; прогрессирование инфекции – 3,1%. С увеличением длительности ГЦП более 30 дней связано увеличение частоты бактериемии (12,5% против 28%,  $p < 0,05$ ); сочетания ПИ с другими инфекциями (25% против 52%,  $p < 0,05$ ); необходимости модификации антибактериальной терапии (16,7 против 40%,  $p < 0,05$ ).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** состояние ГЦП статистически значимо повышает вероятность развития ПИ. Для ПИ, развившейся в условиях ГЦП характерны атипичные, часто скудные клинические проявления и высокая вероятность сепсиса. Основным механизмом инфицирования параректальной клетчатки в период ГЦП является проникновение микроорганизмов через нарушенные тканевые барьеры. Антибактериальная терапия является приоритетным методом лечения ПИ в условиях ГЦП; эффективность антибактериальной терапии составила 83,1%. Необходимость оперативного лечения в период ГЦП ассоциирована с увеличением продолжительности инфекционного эпизода и антибактериальной терапии. Увеличение продолжительности ГЦП является неблагоприятным предиктором в лечении ПИ.

**[Ключевые слова:** периаанальная инфекция, абсцесс, лейкоз, агранулоцитоз, гранулоцитопения, нейтропения, гемобластоз]

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование не имело источника финансирования.

Для цитирования: Штыркова С.В., Клясова Г.А., Карагюлян С.Р., Гемджян Э.Г., Данишян К.И. Особенности периаанальных инфекционных осложнений у больных гранулоцитопенией и опухолевыми заболеваниями системы крови. *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 10-31. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-10-31>

## PERIANAL INFECTIOUS COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH GRANULOCYTOPENIA AND HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

Svetlana V.Shtyrkova, Galina A.Klyasova, Suren R.Karagyulyan, Eduard G.Gemdzhian, Karen I.Ntanishyan

# National Research Center for Hematology (Novy Zykovsky proezd, 4, Moscow, 125167, Russia)

*AIM: to study the perianal infection (PI) in patients with granulocytopenia (GCP) and hematological malignancies (HM).*

*PATIENTS AND METHODS: the prospective study (2016-2018) includes 95 episodes of PI in 76 patients with HM (male/female 35/44; mean age of 35 (17-69)). 43(54.4%) of the patients were detected to develop acute leukemia (AML – 34 (43%); ALL – 9(11.4%); NHL – 17(21.5%).*

*The comparison of PI episodes within the GCP period (number of granulocytes less than  $0.5 \times 10^9/l$ ) and without it was done.*

*RESULTS: PI episodes within the period of GCP were significantly much more often than those without GCP (77.9% vs 22.1%, relative risk 3.5 (95% CI: 2.4-5.2).*

*The biggest number of PI episodes in the setting of GCP was registered within the period of chemotherapy (ChT): in the phase of consolidation (28.4%) and induction (13.3%) of acute leukemia ChT and lymphomas' ChT (20.3%).*

*Anal fissures were the most frequent source of PI within GCP period (66.2% vs 19.1% without GCP,  $p < 0.001$ ).*

*Inflammatory changes in perianal tissues were clinical features of PI in the setting of GCP in 89.2% of the cases: inflammatory mass in 71.6% (vs 23.8% without GCP,  $p < 0.001$ ), abscess in 8.1% (vs 66.7% without GCP,  $p < 0.001$ ).*

*In 10.8% of the cases of PI with GCP only perianal pain and fever were registered. No tissues change was detected with the lowest WBC count (Me 0.2 (0.1-0.5)  $\times 10^9/l$ ). Bloodstream infections were detected in 15 (20.3%) episodes within the period of GCP only, of them in 6 (8.1%) cases the species matching of microorganisms in blood and in rectum was noticed.*

*Within the period of GCP antibacterial therapy was carried out in 98.6% of the cases: antibacterial therapy alone was applied in 87.8% of the episodes (vs 7.2% without GCP,  $p < 0.001$ ); both antibacterial therapy and surgical treatment were carried out in 10.8% (vs 61.9% without GCP,  $p < 0.001$ ) of the cases. Mean duration of antibiotic treatment of patients with GCP was drastically longer in the group of postoperative patients in comparison with the group of those who had conservative treatment (25.5 vs 15.1 days,  $p = 0.05$ ). Antimicrobial therapy within GCP period resulted into inflammation regress in 83.1% of the cases; abscess or fistula formation, hence surgical treatment in 13.8% of the cases; progression of infection in 3.1% of the cases. Increase of GCP duration up to 30 and more days is connected with bacteremia rate increase (12.5% vs 28%,  $p < 0.05$ ); combinations of PI with other infections (25% vs 52%,  $p < 0.05$ ); requirement of antimicrobial therapy modification (16.7% vs 40%,  $p < 0.05$ ).*

*CONCLUSION: GCP significantly raises risk of PI. PI that develops in the setting of GCP, is characterized by abnormal, often low clinical manifestations and high risk of sepsis.*

*Invasion of microorganisms through affected tissue seals is the basic mechanism of perianal infection within the period of GCP. Antibacterial therapy is the prior method of PI treatment in the settings of GCP; antibacterial therapy efficiency is 83.1%. Need for surgery in the period of GCP is associated with the infectious episode and antibacterial therapy duration increase. Lengthening of GCP is a negative predictor in PI treatment.*

**[Key words: perianal infection, abscess, leukemia, agranulocytosis, granulocytopenia, neutropenia, hemoblastosis]**

**CONFLICTS OF INTERESTS: The authors declare no conflicts of interest.**

**The study had no source of funding.**

*For citation: Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Karagyulyan S.R., Gemdzian E.G., Ntanishyan K.I. Perianal infectious complications in patients with granulocytopenia and haematological malignancies. *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 10-31. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-10-31>*

**Адрес для переписки: : Штыркова Светлана Витальевна, ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д.4, Москва, 125167, Россия; тел. моб.: +7 (916) 136-04-21, тел. раб.: +7 (495) 612-61-91; e-mail: sv-styrkova@mail.ru**

**Address for correspondence: Shtyrkova S.V., National Research Center for Hematology, Novy Zykovsky proezd, 4, Moscow, 125167, Russia; +7(916)136-04-21, +7(495)612-61-91; e-mail: sv-styrkova@mail.ru**

Дата поступления – 01.08.2020

Received – 01.08.2020

После доработки – 10.09.2020

Revised – 10.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**АА** – апластическая анемия  
**БЛРС** – β-лактамазы расширенного спектра  
**ГЦП** – гранулоцитопения  
**ММ** – множественная миелома  
**МРТ** – магнитно-резонансная томография  
**ОЛЛ** – острый лимфобластный лейкоз  
**ОМЛ** – острый миелоидный лейкоз  
**ПИ** – перианальная инфекция  
**ХТ** – химиотерапия

## ВВЕДЕНИЕ

Ведущим фактором развития инфекционных осложнений в онкогематологии является гранулоцитопения (ГЦП). Частота инфекционных осложнений возрастает при снижении количества гранулоцитов менее  $1,0 \times 10^9 /л$  и значительно увеличивается при гранулоцитах менее  $0,5 \times 10^9 /л$ . В этих условиях у микроорганизмов, которые колонизируют слизистые и не являются патогенными, появляется возможность проникать через поврежденные тканевые барьеры и



вызывать инфекции, включая бактериемию [1]. ГЦП может быть как проявлением самого гематологического заболевания, так и следствием противоопухолевой терапии. Частота инфекционных поражений перианальных тканей у онкогематологических больных в период ГЦП достигает 10,8% [2].

Отсутствие гранулоцитов существенным образом меняет не только частоту возникновения, но и клинические проявления инфекционных процессов. Формирование воспалительных изменений в тканях может быть отсроченным и иметь атипичные формы. Для описания инфекций в перианальной области у таких пациентов используют термин «аноректальная» или «перианальная инфекция» (ПИ), который включает в себя как аноректальные абсцессы и свищи, так и другие клинические формы, такие как: воспалительная инфильтрация, изъязвления, некрозы, поражение мягких тканей вследствие гематогенного распространения инфекции и др. [3-9].

Характерной чертой инфекционных процессов, протекающих на фоне ГЦП, является сочетание скудности клинической картины и местных проявлений с высокой частотой сепсиса и летальности [1]. Аноректальная боль может быть единственным симптомом ПИ у пациентов с тяжелой ГЦП [3]. Доля инфекционных осложнений, протекающих без существенного повышения температуры тела у пациентов с онкогематологическими заболеваниями, получающих современную химиотерапию (ХТ), составляет 20-28% [1-3]. Особенно часто инфекционные процессы без лихорадки наблюдаются на фоне терапии глюкокортикостероидами. Сепсис среди пациентов с ПИ и ГЦП регистрируется в 20-33% случаев [9,10]. ПИ является одной из причин развития септического шока у больных с нейтропенией [5,9].

В публикациях 80-90-х годов показана высокая летальность среди пациентов с ПИ и ГЦП, достигающая 50% [3,11]. В современных исследованиях показатель летальности, связанной с ПИ, не превышает 5% [2,5,7,10,16]. Снижение летальности авторы связывают с ранней диагностикой и ранним началом антимикробной терапии, применением колоний стимулирующего фактора для сокращения сроков периодов ГЦП [7].

Представление об особенностях течения инфекционного процесса в параректальной клетчатке у больных с ГЦП, факторах, определяющих прогноз, необходимо для определения оптимальной тактики и успешного лечения.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности перианальной инфекции (ПИ) у пациентов с гранулоцитопенией (ГЦП) и опухолевыми заболеваниями системы крови.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Критериями включения пациентов в исследование являлись: установленный диагноз гемобластоза и наличие признаков ПИ. Пациенты находились на лечении в НМИЦ Гематологии (Москва) с 2016 по 2018 гг. Анализировали все эпизоды ПИ за данный период времени.

В соответствии с протоколом исследования была создана база данных, которая включала следующую информацию: возраст, пол пациента; диагноз гематологического заболевания и этап лечения; наличие и длительность ГЦП; клинические проявления ПИ, длительность эпизода ПИ; вариант лечения; исход воспаления; данные лабораторных и микробиологических исследований.

Тяжелую степень ГЦП констатировали при снижении абсолютного количества гранулоцитов (нейтрофилов) менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ . Для проведения анализа и выявления значения ГЦП все эпизоды ПИ были разделены на две группы: первая группа – эпизоды, развившиеся на фоне тяжелой ГЦП; вторая – без ГЦП. Наличие признаков воспаления параректальной клетчатки оценивали клинически на основании жалоб больного, наличия лихорадки, местных признаков ПИ в виде отека, гиперемии, болезненности тканей перианальной области. При клинически неясном диагнозе данные осмотра были дополнены визуализацией с помощью магниторезонансной (МРТ) или компьютерной томографии (КТ). МРТ/КТ признаками ПИ являлось наличие полостей в параректальной клетчатке, скоплений жидкости, дефектов стенки прямой кишки и свищевых ходов. У больных с ГЦП при наличии клинических данных достаточным МРТ/КТ признаком ПИ считали наличие отека параректальной клетчатки. Отдельно оценивали источники инфицирования на основании осмотра или данных МРТ/КТ.

На основании полученных данных определяли клинические формы ПИ: абсцесс, инфильтрат или некрозы. У больных с тяжелой ГЦП наличие боли в перианальной области и лихорадки считали достаточными признаками очага инфекции.

Для выявления характера микрофлоры проводили микробиологическое исследование мазков со слизистой прямой кишки при поступлении пациента в стационар, исследование повторяли при выявлении очага инфекции, проводили мониторинг при противомикробной терапии. При температуре более  $38^\circ\text{C}$  забирали кровь из вены и исследовали гемокультуру. При рассмотрении ПИ как возможного источника инфекции при сепсисе учитывали вид микроорганизмов, выделенных из прямой кишки и крови.

При выявлении ПИ у больных с ГЦП назначали внутри-



**Таблица 1.** Характеристики пациентов с перианальной инфекцией

**Table 1.** Characteristics of patients with perinatal infection (PI)

Показатель	Число пациентов n(%)
Число пациентов	79
Пол м/ж	35/44
Возраст медиана (размах) лет	35(17-69)
Диагноз	
Острые миелоидные лейкозы	34 (43)
Острый лимфобластный лейкоз	9 (11,4)
Неходжкинские лимфомы	17(21,5)
Лимфома Ходжкина	6 (7,6)
Апластическая анемия	6 (7,6)
Множественная миелома	4 (5,1)
Прочие	3 (3,8)
Переведены из других стационаров	8(10,1)
Пациенты с 1 эпизодом ПИ	67(84,8)
Пациенты с 2 эпизодами ПИ	8(10,1)
Пациенты с 3 эпизодами ПИ	4(5,1)

венно антибиотики. Для стартовой антибактериальной терапии использовали  $\beta$ -лактамы с ингибиторами  $\beta$ -лактамаз (пиперациллин/тазобактам или цефоперазон/сульбактам) или карбапенем с антипсевдомонадной активностью (имипенем/циластин, меропенем, дорипенем). Модификацию антибактериальной терапии проводили согласно клиническим данным (при сохраняющейся фебрильной нейтропении и местных признаках воспаления) и результатам микробиологических исследований. Лечение антибиотиками считали эффективным при регистрации нормальной температуры тела и редукции клинических симптомов воспаления. Показанием к операции считали наличие абсцессов, очагов некроза и деструкции тканей. Выполняли дренирование абсцессов, некрэтомия. В ряде случаев (флегмона таза) оперативное дренирование сочетали с наложением колостомы. Статистический анализ проводился на материале базы данных, созданной для данного исследования, и вклю-

**Таблица 2.** Распределение эпизодов ПИ у больных с ГЦП и без ГЦП

**Table 2.** Indication of PI cases in patients with and without GCP

Показатель	Эпизоды ПИ n (%)		p
	ГЦП есть	ГЦП нет	
<b>Число эпизодов ПИ*</b>	<b>74</b>	<b>21</b>	
Связь с ХТ:			
до начала ХТ	3(4,1)	6(28,6)	0,05
в период ХТ	55(74,3)	10(47,6)	
после окончания ХТ	4(5,4)	4(19,0)	
ХТ острых лейкозов:			
индукция	40(54,3)	7(33,3)	0,01
консолидация	14(18,9)	4(19,0)	
поддерживающая терапия	21(28,3)	3(14,3)	
ХТ лимфом	5(6,8)	0	
Алло-ТКМ	15(20,3)	3(14,3)	
Ауто-ТКМ	7(9,5)	0(0)	0,01
Ремиссия гемобластоза	5(6,8)	1(4,8)	
Сочетание эпизода ПИ с другими инфекциями	46(62,5)	10(47,6)	0,09
Инфекции кровотока	32(43,2)	4(19,0)	0,05
Септический шок	15(20,3)	0(0)	0,01
Развитие эпизода ПИ на фоне антибактериальной терапии	2(2,7)	0(0)	0,60
Клинические проявления:			
абсцесс	19(25,7)	0(0)	0,01
инфильтрат	6(8,1)	14(66,7)	<0,001
некрозы/язвы	53(71,6)	5(23,8)	
боль	7(9,5)	2(9,5)	
	8(10,8)	0(0)	
Источник инфицирования:			
крипты анального канала	3(4,1)	7(33,3)	<0,001
анальные трещины	49(66,2)	4(19,1)	
свищи	10(13,5)	7(33,3)	
послеоперационная рана	2(2,7)	0	
другие	10(13,5)	3(14,3)	

\*Всего 95 эпизодов ПИ у 79 пациентов



**Рисунок 1.** МРТ органов малого таза. Пациент П. ДЗ: Острый миелоидный лейкоз, гранулоцитопения. Отек (инфицирование) параректальной клетчатки  
**Figure 1.** Pelvic MRI. Patient P. Diagnosis: Acute Myeloid Leukemia, granulocytopenia. Pararectum edema

чал построение распределений признаков, проверку статистической однородности выборок (ранговый критерий Вилкоксона), частотный анализ, корреляционный анализ и многофакторный анализ (логистическую регрессию). Непрерывные данные представлены в виде средних значений (с размахом) или медиан (с размахом или 95% доверительным интервалом) в зависимости от вида распределения, категориальные данные представлены в виде частот и процентов.

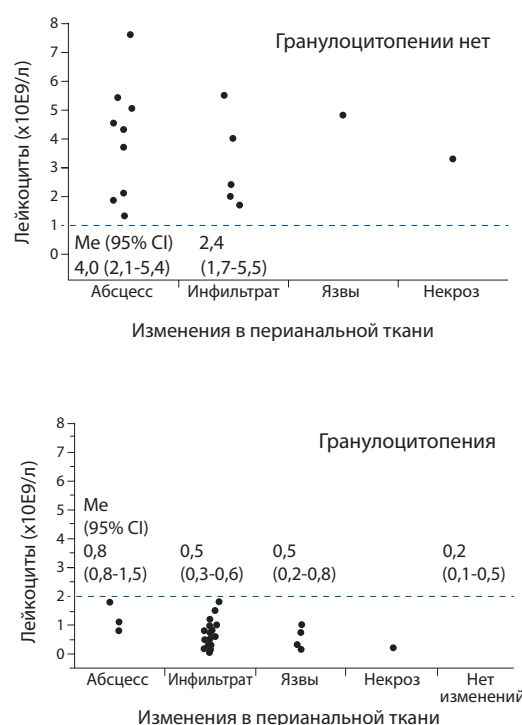
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Было изучено 95 эпизодов ПИ у 79 пациентов (35 мужчин и 44 женщины). Медиана возраста больных оставила 35 лет (колебания от 17 до 69 лет). У большинства пациентов был установлен диагноз острый лейкоз 43(54,4%) и неходжкинская лимфома 17(21,5%). За период наблюдения 67(84,8%) пациентов имели один эпизод ПИ, 12(15,2%) пациентов - два и более эпизода ПИ (Табл.1). Эпизоды ПИ в период ГЦП регистрировали статистически значимо чаще, чем без ГЦП: 74(77,9%) против 21(22,1%), относительный риск 3,5 (95% ДИ: 2,4-5,2), точный (двусторонний) критерий Фишера (Табл.2). Значительное число эпизодов ПИ развилось в ремиссии гематологического заболевания как у пациентов с ГЦП (62,5%), так и без ГЦП (47,6%). Наибольшее количество эпизодов ПИ на фоне ГЦП отмечено в период проведения ХТ (74,3%): чаще на этапах консолидации и индукции ХТ острых лейкозов (28,4% и 13,3%, соответственно) и ХТ лимфом – 20,3%. Эпизоды ПИ, возникшие после ТКМ, также чаще сочетались с ГЦП (алло-ТКМ 9,5% против 0, ауто-ТКМ 6,8% – против 4,8%;  $p=0,01$ ). Эпизоды ПИ, протекаю-

щих без ГЦП, преобладали в дебюте гематологического заболевания до начала ХТ (28,6% против 4,1%) и после завершения ХТ (19,0% против 5,4%).

Для пациентов с ГЦП было характерно сочетание ПИ с другими инфекционными осложнениями (43,2%, против 19% у пациентов без ГЦП,  $p=0,05$ ). В группе с ГЦП инфекции кровотока в период ПИ регистрировался у 15(20,3%) пациентов, из них у 2 развился септический шок. В группе без ГЦП инфекции кровотока не были выявлены.

У больных с тяжелой ГЦП местные признаки воспаления в параректальных тканях клинически выявлялись у 66(89,2%) из 74 пациентов. Самым частым проявлением ПИ среди пациентов с ГЦП был воспалительный инфильтрат 71,6%. Некрозы/язвы перианальных тканей отмечены в 7(9,5%) эпизодах, формирование



**Рисунок 2.** Сравнение изменений в перианальной ткани у пациентов с перианальной инфекцией в группе с ГЦП (нижний рисунок) и без ГЦП (верхний рисунок). Наиболее высокий уровень лейкоцитов наблюдался при абсцессе (как у пациентов с ГЦП: медианный тест,  $p=0,05$ , так и у пациентов без ГЦП); самый низкий уровень лейкоцитов наблюдался у пациентов с ПИ, не имевших видимых изменений в перианальной ткани.

**Figure 2.** Comparison of changes in perianal tissue in patients with perianal infection in the group with GCP (lower figure) and without GCP (upper figure). The highest level of white blood cells was observed in abscess (both in patients with GCP: median test,  $p=0.05$ , and in patients without GCP); the lowest level of white blood cells was observed in patients with PI who had no visible changes in the perianal tissue.



**Рисунок 3.** Гранулоцитопения. Источник инфицирования – анальная трещина

**Figure 3.** Granulocytopenia. Anal fissure is the source of infection

абсцессов – в 6(8,1%). В 8 (10,8%) эпизодах ПИ регистрировали только боль в перианальной области и лихорадку; но без воспалительных изменений мягких тканей. По данным МРТ у этих больных регистрировали признаки отека параректальных тканей (Рис.1). У пациентов без ГЦП изменения в тканях присутствовали во всех наблюдениях. В этой группе преобладали абсцессы – 66,7%.

При сравнении количества гранулоцитов у пациентов с различными формами ПИ отмечено, что наиболее высокий уровень лейкоцитов был выявлен у больных с абсцессами (как у пациентов с ГЦП, так и без ГЦП). Самое низкое число лейкоцитов (медиана 0,2 (0,1-0,5) $\times 10^9$ /л)

было отмечено у пациентов с ПИ, не имевших видимых изменений в перианальных тканях (Рис.2). Существенные различия между группами касались источников инфицирования перианальной клетчатки. Классический патогенез аноректального абсцесса был характерен для эпизодов ПИ без ГЦП: чаще источником инфекции являлись анальные крипты (33,3% против 4,1%;  $p < 0,001$ ), свищи (33,3% против 13,5%;  $p < 0,001$ ) (Табл.2).

У больных с ГЦП в большинстве наблюдений воспаление формировалось вокруг дефектов стенок анального канала или перианальной кожи: чаще отмечено инфицирование анальных трещин (Рис.3) (66,2% против 19,1%;  $p < 0,001$ ), язв перианальной кожи – 13,5%. В двух наблюдениях источниками инфекции были послеоперационные раны. Криптогенные парапроктиты составили лишь 4,1% эпизодов ПИ с ГЦП.

В таблице 3 представлен спектр микроорганизмов, выделенных в момент развития ПИ из прямой кишки и из крови. Всего было выделено 111 микроорганизмов, среди которых преобладали энтеробактерии (64%) за счет штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella spp.* В 5(4,5%) случаев были определены *Pseudomonas aeruginosa* на слизистой прямой кишки. Колонизация слизистой кишечника энтеробактериями с продукцией  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) составили 40,5%, ванкомицин-устойчивыми штаммами *Enterococcus faecium* 13,5%.

Бактериemia выявлена в 15 эпизодах ПИ, во всех случаях на фоне ГЦП. В 6 наблюдениях отмечено видовое соответствие микроорганизмов, выделенных из прямой кишки и крови. Таким образом, ПИ явилась

**Таблица 3.** Спектр микроорганизмов, выделенных при диагностике ПИ из прямой кишки и из крови

**Table 3.** Diversity of microorganisms in blood and in rectum detected via PI diagnostics

Микроорганизмы	Локус выделения		Совпадение микроорганизмов, выделенных из прямой кишки и крови $n=6$
	Микроорганизмы прямая кишка $n=111$	Микроорганизмы кровь $n=15$	
Грамотрицательные бактерии	76(68,5)	12(75,0)	0
Семейство <i>Enterobacteria ceae</i>	71(64)	8(50,0)	0
<i>Escherichia coli</i>	47(42,3)	5(31,3)	2
Из них с продукцией БЛРС	26(23,4)	2(12,5)	1
<i>Klebsiella spp</i>	15(13,5)	3(18,7)	0
Из них с продукцией БЛРС	14(12,6)	2(12,5)	2
Другие энтеробактерии	9(8,1)	0	0
Из них с продукцией БЛРС	5(4,5)	0	0
Всего с продукцией БЛРС	45(40,5)	4(25,0)	3
Неферментирующие бактерии			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5(4,5)	4(25)	1
Грамположительные бактерии	18(16,2)	3(18,8)	
<i>Enterococcus spp</i>	18(16,2)	3(18,8)	1
<i>Enterococcus faecium</i> ванкомицин-устойчивые	15(13,5)	0	0
Грибы			
<i>Candida spp</i>	17(15,3)	0	0

**Таблица 4. Варианты лечения ПИ**  
**Table 4. Variants of PI treatment**

Варианты лечения	Число эпизодов ПИ, n (%)			p
	Всего n=95	ГЦП есть n=74	ГЦП нет n=21	
Антибактериальная терапия	70(73,7)	65(87,8)	5(7,2)	<0,001
Сочетание операции и антибактериальной терапии	18(19,9)	8(10,8)	10(47,6)	0,001
Только операции	3(3,2)	0	3	0,01
Виды операций:				
вскрытие абсцесса	19(20,0)	6(8,1)	13(61,9)	<0,001
вскрытие флегмоны таза, колостомы	1(1,1)	1(1,4)	0(0)	
иссечение свища	1(1,1)	1(1,4)	0(0)	
Всего прооперировано	21(22,1)	8(10,8)	13(61,9)	<0,001
Проводилось только местное лечение	4(4,2)	1(1,4)	3(14,3)	0,03

**Таблица 5. Результаты применения антибиотиков у пациентов с ПИ**  
**Table 5. Antibiotic treatment outcomes in patients with PI**

Показатель	Число эпизодов ПИ n (%)		p
	ГЦП есть n=74	ГЦП нет n=21	
Назначение стартовой антибактериальной терапии:	73	15	0,01
цефоперазон/сульбактам	44(60,3)	5(33,3)	
карбапенемы	20(27,4)	0	
прочие антибиотики*	9(12,3)	10(66,7)	
Замена антибиотиков стартового этапа на карбапенемы	17(23)	2(13,3)	0,15
Применение карбапенемов	37(50,7)	2(13,3)	0,01
Эффективность цефоперазон/сульбактама:			0,01
в режиме монотерапии	7(16)	3(60)	
в сочетании с амикацином	13(29,5)	1(20)	
в сочетании с другими препаратами**	7(16)	1(20)	
Эффективность карбапенемов:			0,001
в режиме монотерапии	8(21,6)	1(50)	
в сочетании с амикацином	9(24,3)	0(0)	
в сочетании с другими препаратами**	15(40,5)	1(50)	
Эффективность прочих антибиотиков*	2(22,2)	8(80)	0,001
Общая эффективность антибактериальной терапии	61(83,6)	15(100)	0,37
Средняя (размах) длительности антибактериальной терапии, дни	16,1(3-67)	13,1(1-27)	0,19

\*ципрофлоксацин, миксофлоксацин и амоксицилин, \*\*ванкомицин, линезолид и тигацил

микробиологически доказанным источником сепсиса у 6(8,1%) из 74 больных.

Антибактериальная терапия была основным методом лечения ПИ в нашем исследовании и применялась в 88(92,6%) из 95 ЭПИ (Табл.4). Только антибактериальная терапия в качестве лечения ПИ использовалась, в основном, в период ГЦП (87,8% против 23,8%;  $p<0,05$ ). В 21(22,1%) случае - первым этапом лечения ПИ была срочная операция. Большинство пациентов были прооперированы вне ГЦП (61,9% против 10,8%,  $p<0,05$ ). Случаи спонтанного регресса воспаления (1 в группе с ГЦП и 3-без ГЦП) были связаны с восстановлением количества лейкоцитов и местным применением антисептиков.

В таблице 5 представлен анализ антибактериальной терапии ПИ. Для лечения ПИ антибиотики чаще назначались в период ГЦП (98,6% против 71,4%).

У пациентов с ГЦП в качестве стартовой антимикробной терапии статистически значимо ( $p=0,05$ ) чаще использовали цефоперазон/сульбактам (60,3% против 33,3%) и карбапенемы (27,4% против 0%). Препараты вводились только парентерально. Необходимо отметить, что в этой группе в 19(25,7%) из 74 эпизодов развитие ПИ происходило на фоне антибактериальной терапии, проводимой по поводу других инфекционных осложнений, а в двух случаях отмечен септический шок. По этой причине нередко стартовой терапией ПИ являлись карбапенемы.

В группе пациентов без ГЦП антибактериальная терапия чаще дополняла оперативное лечение. Стартовая антибактериальная терапия в большинстве эпизодов (66,7%) проводилась такими препаратами, как ципрофлоксацин, миксофлоксацин, амоксицилин, которые назначали как перорально, так и паренте-



**Таблица 6.** Результаты консервативного и хирургического лечения ПИ  
**Table 6.** Conservative and surgical treatment outcomes in patients with PI

Показатель	ГЦП есть, n (%)		ГЦП нет, n (%)		p
	Оперированы	Консервативно пролечены	Оперированы	Консервативно пролечены	
Число эпизодов ПИ	8	66	13	8	
Назначение антибиотиков	8(100)	65(98,5)	10(76,9)	5(62,5)	<0,001
Регресс симптомов воспаления	7(87,5)	54(83,1)	13(100)	7(87,5)	<0,001
Формирование абсцесса/свища	0(0)	9(13,8)	0 (0)	1 (12,5)	0,27
Прогрессирование ПИ	1(12,5)	2(3,1)	0 (0)	0 (0)	0,19
Средняя (размах) длительность инфекционного эпизода, дни	25,5(5-54)	15,1(1-67)	11,2(1-21)	15,2(3-27)	0,01

\* сравниваются распределения частот при наличии и отсутствии ГЦП

**Таблица 7.** Результаты лечения ПИ в зависимости от продолжительности ГЦП  
**Table 7.** Outcomes of PI treatment according to GCP duration

Показатель	Длительность ГЦП, дни		
	1-14	15-30	>30
Число эпизодов ПИ	24	25	24
Назначение антибактериальной терапии, n	23	25	25
Модификация а/б терапии, n (%)	4(16,7)*	6(24)	10(40)*
Назначение карбапенемов, n (%)	9(37,5)	12(48)	13(52)
Прогрессирование ПИ, n (%)	0(0)	0(0)	2(8)
Сочетание ПИ с другими инфекциями, n (%)	6(25) **	15(60)	13(52) **
Бактериемия, n (%)	3(12,5) ***	5(20)	7(28) ***
Средняя длительность антибактериальной терапии, дни	8,3#	12,9	23,1#

\*, \*\*, \*\*\*, # – различие статистически значимо (p<0,05)

рально. Эти препараты были достаточно эффективны только в группе без ГЦП (80% против 22,2%, p=0,05). При сочетании ПИ с ГЦП эффективность монотерапии антибиотиками была статистически значимо (p=0,05) ниже, чем в группе без ГЦП как для цефоперазон/сульбактама (16% против 60 %) так и для карбапенемов (21,6% против 50 %).

Добавление других антимикробных препаратов к антибиотикам первой линии применялось в 48(55,2%) наблюдениях, чаще у больных с ГЦП (69,9 против 20%). Чаще использовали амикацин – 58,3%, ванкомицин – 19,4%, антимикотики – 27,8%.

В группе пациентов с ГЦП при добавлении амикацина лечение было чаще успешным при назначении цефоперазон/сульбактама (17,8% против 9,6%). Добавление ванкомицина (или линезолида) увеличивало частоту излечений при назначении карбапенемов (20,5% против 11%, p=0,05). Частота применения карбапенемов на всех этапах терапии была больше при сочетании ПИ с ГЦП (50,7% против 13,3%; p=0,05). Для оценки результатов лечения был проведен анализ подгрупп оперированных и не оперированных больных (Табл.6).

Результатом консервативной антибактериальной терапии ПИ в период ГЦП был регресс признаков воспаления в тканях в 83,1% случаев; в 13,8% наблюдений в период восстановления нейтрофилов сфор-

мировались абсцессы или свищи, потребовавшие хирургического лечения.

Среди оперированных пациентов с ГЦП регресс симптомов воспаления был достигнут 87,5% случаев. Следует отметить, что в группе пациентов с ГЦП все операции сочетались с антибактериальной терапией. Длительность антибактериальной терапии в среднем была существенно больше в группе оперированных больных с ГЦП, чем в группе пролеченных консервативно (в среднем 25 дней против 15, p=0,05).

При анализе факторов, влияющих на частоту излечения и длительность терапии, имела большое значение продолжительность периода ГЦП (Табл.7).

При увеличении срока ГЦП более 30 дней достоверно увеличивается частота сочетания ПИ с другими инфекционными осложнениями с 25% до 60% (p<0,05). При этом ПИ достоверно чаще сопровождается бактериемией (ГЦП до 30 дней – 12,5%, при ГЦП более 30 дней – 28%; p<0,05), необходимостью модификации антибактериальной терапии (16,7 против 40%; p<0,05) и длительностью применения антибиотиков (8,3 против 23,1 дня; p<0,05).

Отсутствие эффекта, прогрессирование инфекции отмечено у двоих пациентов с длительностью ГЦП более 30 дней. Однако ПИ не была непосредственной причиной летальных исходов в данном исследовании.

## ОБСУЖДЕНИЕ

ГЦП оказывает определяющее влияние на частоту развития инфекционных осложнений в гематологической клинике. В 74(77,9%) из 95 эпизодов в данном исследовании ПИ развилась в период ГЦП. Похожие данные продемонстрированы среди пациентов, обследованных в НМИЦ гематологии с 2009 по 2015 гг. [12]. Большинство эпизодов ПИ в период ГЦП (74,3%) развились на фоне курсов ХТ.

Формирующееся на фоне ГЦП воспаление параректальных тканей имеет своеобразные черты, которые существенно отличаются от парапроктита у иммунокомпетентных больных [8,13].

Общепринятое объяснение патогенеза аноректального абсцесса (острого парапроктита), а также аноректальных свищей - это воспаление околопрямокишечной клетчатки, обусловленное распространением воспалительного процесса из анальных крипт и анальных желез [13-15].

В нашем исследовании абсолютное количество криптогенных парапроктитов было равным в обеих группах (13 против 14). Однако у пациентов с ГЦП, классические криптогенные парапроктиты (4,1%) и обострения хронического парапроктита на фоне существующих параректальных свищей (13,5%) представляли лишь небольшую долю наблюдений ПИ. В большинстве случаев инфекционный процесс в параректальной клетчатке в период ГЦП представлял собой воспаление, формирующееся вокруг дефектов анодермы, перианальной кожи (Рис.3). Отсутствие нейтрофилов определяет возможность для появления дополнительных механизмов инфицирования - распространения бактериальной флоры в ткани и кровотока как со слизистой кишечника, так и через повреждения кожи анального канала и перианальной области [1,8,12]. Поэтому в условиях нейтропении частыми источниками инфицирования параректальной клетчатки становятся анальные трещины, язвы, эрозивные проктиты, дерматиты и другие процессы, нарушающие барьерную функцию кожи и слизистой [1,5,12].

В литературе отсутствует классификация изменений в перианальных тканях, связанных с ГЦП. В большинстве публикаций выделяются абсцессы, инфильтративное воспаление, некротические и язвенные поражения. По данным исследования, включавшего пациентов с тяжелой нейтропенией и лейкоемией, аноректальная боль (86%) является самым частым признаком ПИ; изменения тканей в виде гиперемии и целлюлита присутствуют в 42%, а скопление гноя появляются редко (13,5 %) [3]. В нашем исследовании воспаление в период ГЦП в большинстве наблюдений было представлено инфильтратом (71,8%) и



**Рисунок 4.** КТ органов малого таза. Пациент Л. ДЗ: Неходжкинская лимфома. Состояние на фоне высокодозной ПХТ. Гранулоцитопения. Перфорация стенки прямой кишки, параректальная полость, содержащая газ.

**Figure 4.** Pelvic CT image. Patient L. Diagnosis: non-Hodgkin's lymphoma. Patient's status in the setting of high-dose chemotherapy, granulocytopenia. Rectum perforation, pararectal cavity containing gas

некрозами тканей (10,8%). Следует отметить, что формирование абсцесса редкое, но возможное проявление ПИ при ГЦП [6]. В данном исследовании в 6(8,1%) из 74 эпизодов ПИ отмечено формирование полостных образований в параректальной клетчатке в период ГЦП. Содержимым таких полостей являлся гной, а при наличии дефекта в стенке кишки - кишечное содержимое или газ (Рис.4).

Наряду с представленными выше формами ПИ у части пациентов с тяжелой ГЦП невозможно визуализировать явные признаки инфекции, которые присутствовали бы у иммунокомпетентного пациента [8]. В нашем исследовании 10,8% эпизодов ПИ у пациентов с ГЦП протекали с интенсивными болями, но без классических признаков воспаления. Изменения в тканях удавалось фиксировать только при МРТ визуализации. Исследование зависимости между количеством лейкоцитов и клиническими формами ПИ продемонстрировало, что отсутствие видимых изменений в тканях было при самом низком количестве лейкоцитов (медиана  $0,2 (0,1-0,5) \times 10^9 / л$ ) (Рис.2).

Таким образом, в ряде случаев использование только клинической оценки может ввести в заблуждение [4]. Точные данные о характере изменений в тканях важны, так как являются основой для выбора тактики лечения. ГЦП не исключает наличие полостных образований, требующих оперативного дренирования. Приоритетным методом дополнительного обследования является МРТ [4,8,13,14].

Наиболее распространенными микроорганизмами, культивируемыми из крови и прямой кишки при ПИ, являются представители семейства энтеробактерий и энтерококки [3,5,7,16]. Преобладание энтеробактерий



в качестве возбудителей отличает ПИ от других видов инфекций кожи и мягких тканей, возбудителями которых являются стрептококки или стафилококки [5]. В данном исследовании среди возбудителей ПИ, выделенных из прямой кишки, отмечено преобладание энтеробактерий 63,96% за счет штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella spp.* В последние годы отмечается тенденция к увеличению количества инфекционных осложнений вызванных грамотрицательными полирезистентными микроорганизмами [1,5]. В данном исследовании колонизация слизистой кишечника резистентными штаммами выявлена в 54% наблюдений, из которых энтеробактерии с продукцией БЛРС составили 40,5% и ванкомицин-устойчивые штаммы *Enterococcus faecium* 13,5%.

Необходимо отметить, что для пациентов с ГЦП характерно сочетание инфекций и септический характер инфекционных осложнений. В нашем исследовании инфекции кровотока были отмечены только у пациентов с ГЦП. ПИ явилась микробиологически доказанным источником сепсиса в 8,1% случаев.

Важной особенностью лечения ПИ является необходимость учитывать многие факторы, определяющие тактику. К таким факторам относят форму воспаления, наличие или отсутствие показаний к оперативному лечению, наличие ГЦП, ее предполагаемую длительность, тяжесть состояния пациента, наличие других инфекционных осложнений и терапию, проводимую на момент регистрации ПИ.

Если лечение острого парапроктита у иммунокомпетентных больных только хирургическое [13,14], то наличие ПИ у больных с ГЦП является показанием к срочному началу антибактериальной терапии. Результаты ряда исследований подтверждают возможность успешного лечения ПИ у таких пациентов с помощью антибиотиков широкого спектра [2,5,10,16].

В нашем исследовании необходимость антибактериальной терапии при ГЦП была во всех случаях как в группе оперированных, так и не оперированных больных. Только противомикробная терапия при ГЦП проводилась в 87,8% случаев, в сочетании с операцией - в 10,8%.

Мы придерживаемся эскалационного подхода к назначению антимикробной терапии, который предполагает назначение на начальном этапе инфекции цефоперазона/сульбактама или пиперациллина/тазобактама, активных в отношении бактерий семейства *Enterobacteriaceae* [17]. Дальнейшая модификация терапии проводится согласно результатам микробиологических исследований. Причиной назначения карбапенемов в качестве стартовой терапии ПИ (27,4% случаев) явилось наличие сепсиса, септического шока и развитие ПИ на фоне уже проводимой антибактериальной терапии.

Особенностью антибактериальной терапии ПИ в условиях нейтропении явилась низкая эффективность как  $\beta$ -лактамов антибиотиков, так и карбапенемов в режиме монотерапии. Добавление других антимикробных препаратов потребовалось в 70,8% случаев.

Антибактериальная терапия ПИ у пациентов без ГЦП успешно проводилась в режиме монотерапии  $\beta$ -лактамами антибиотиками, фторхинолонами, амоксициклавом. В этой группе пациентов был возможен и пероральный прием препаратов.

Среди факторов, влияющих на прогноз течения ПИ и стратегию антибактериальной терапии, большое значение имеет продолжительность периода ГЦП [7,17,18]. В нашем исследовании с увеличением срока ГЦП от 1-14 до 30 более дней связано увеличение частоты бактериемии (12,5% против 28%  $p<0,05$ ); сочетания ПИ с другими инфекциями; необходимость модификации антибактериальной терапии (16,7% против 40%  $p<0,05$ ); длительности применения антибиотиков (8,3 против 23,1 дня;  $p<0,05$ ).

Необходимость в оперативном лечении у пациентов с ГЦП возникает при наличии полостных образований или очагов деструкции тканей. У больных с ГЦП антимикробная терапия должна быть начата одновременно с хирургическим вмешательством и продолжена в послеоперационном периоде до полного исчезновения признаков инфекции. При такой тактике отмечено отсутствие существенных осложнений, связанных с операцией, в том числе у больных с ГЦП [78]. Однако оперативное лечение в период ГЦП связано с увеличением продолжительности инфекционного эпизода и антибактериальной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состояние ГЦП статистически значимо повышает вероятность развития ПИ. Для ПИ, развившейся в условиях ГЦП, характерны атипичные, часто скудные клинические проявления и высокая вероятность сепсиса. Большинство эпизодов ПИ у пациентов с ГЦП не связаны с классическим криптогландулярным механизмом формирования аноректальных абсцессов. Основным механизмом инфицирования параректальной клетчатки в период ГЦП является проникновение микроорганизмов через нарушенные тканевые барьеры. Антибактериальная терапия является приоритетным методом лечения ПИ в условиях ГЦП; эффективность антибактериальной терапии составила 83,1%. Необходимость оперативного лечения в период ГЦП ассоциирована с увеличением продолжительности инфекционного эпизода и антибактериальной терапии. Увеличение продолжительности ГЦП является неблагоприятным предиктором в лечении ПИ.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: Штыркова С.В., Клясова Г.А., Данишян К.И.

Сбор и обработка материалов: Штыркова С.В., Клясова Г.А.

Статистическая обработка: Гемдзян Э. Г., Штыркова С.В.

Написание текста: Штыркова С.В., Клясова Г.А.

Редактирование: Данишян К.И., Карагюлян С.Р.

## THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Ntanishyan K.I.

Collection and processing of the material: Shtyrkova S.V., Klyasova G.A.

Statistical processing: Gemdzhian E.G., Shtyrkova S.V.

Writing of the text: Shtyrkova S.V., Klyasova G.A.

Editing: Ntanishyan K.I., Karagyulyan S.R.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Штыркова Светлана Витальевна (Shtyrkova S.V.) – к.м.н., врач-колопроктолог хирургического отделения ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. E-mail: sv-styrkova@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4272-8433>.

<https://orcid.org/0000-0002-4272-8433>.

Клясова Галина Александровна (Klyasova G.A.) – доктор медицинских наук, профессор, руководитель клиничко-диагностической лаборатории клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. E-mail: [klias@blood.ru](mailto:klias@blood.ru) <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>.

Карагюлян Сурен Роландович (Karagyulyan S.R.) – доктор медицинских наук, консультант дирекции ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. E-mail: [ksr@blood.ru](mailto:ksr@blood.ru). <https://orcid.org/0000-0002-5669-6639>.

Гемдзян Эдуард Георгиевич (Gemdzhian E.G.) – с.н.с. лаборатории биостатистики ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. E-mail: [edstat@mail.ru](mailto:edstat@mail.ru). <https://orcid.org/0000-0002-8357-977X>.

Данишян Карен Исмаилович (Ntanishyan K.I.) – доктор медицинских наук, заведующий научно-клиническим отделением хирургии, заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. E-mail: [ntanishyan@gmail.ru](mailto:ntanishyan@gmail.ru). <https://orcid.org/0000-0001-6732-8286>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Клясова Г.А. Антимикробная терапия. В кн.: Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012; с.827–54.
2. Morcos B, Amarin R, Abu Sba A. et al. Contemporary management of perianal conditions in febrile neutropenic patients. *Eur J Surg Oncol*. 2013;39(4):404–7. doi: 10.1016/j.ejso.
3. Grewal H, Guillem JG, Quan SH, et al. Anorectal Disease in Neutropenic Leukemic Patients. Operative v s. Nonoperative Management. *Dis Colon Rectum*. 1994; 37:1095–1099; doi: 10.1007/BF02049810.
4. Haliloglu N, Gulpinar B, Ozkavukcu E. et al. Typical MR imaging findings of perianal infections in patients with hematologic malignancies. *Eur J Radiol*. 2017 Aug;93:284-288. doi: 10.1016/j.ejrad.2017.05.046.
5. Chen CY, Cheng A, Huang SY. et al. Clinical and microbiological characteristics of perianal infections in adult patients with acute leukemia. *PLoS One*. 2013; 8(4). doi:10.1371/journal.pone.0060624; <http://www.plosone.org>, <http://www.pubmedcentral.gov/tocrender.fcgi?journal=440>.
6. Cohen JS1, Paz IB, O'Donnell MR et al. Treatment of perianal infection following bone marrow transplantation. *Dis Colon Rectum*. 1996 Sep;39(9):981-5.
7. Lehrnbecher T, Marshall D, Gao C. et al. A Second Look at Anorectal Infections in Cancer Patients in a Large Cancer Institute: The Success of Early Intervention with Antibiotics and Surgery. *Infection*. 2002; 30(5):272–276.
8. Sullivan PS, Moreno C. A Multidisciplinary Approach to Perianal and Intra-Abdominal Infections in the Neutropenic Cancer Patient. *Oncology (Williston Park)*. 2015 Aug;29(8):581-90. PMID: 26281844.
9. Solmaz S, Korur A, Gereklio lu , et al. Anorectal Complications During Neutropenic Period in Patients with Hematologic Diseases. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2016 Mar 1;8(1):e2016019. doi: 10.4084/MJHID.2016.019. eCollection 2016. PMID: 26977278.
10. Loureiro RV, Borges VP, Tom AL et al. Anorectal complications in patients with haematological malignancies. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jul;30(7):722-726. doi: 10.1097/MEG.0000000000001133.
11. Vanhueverzwyn R, Delannoy A, Michaux JL, et al. Anal lesions in hematologic diseases. *Dis Colon Rectum*. 1980;23:310-312.
12. Штыркова С.В., Клясова Г.А., Данишян К.И. и соавт. Перианальная инфекция у больных гемобластозами: факторы риска и возможности профилактики. *Терапевтический архив*. 2016;7:72-77. doi: 10.17116/terarkh201688772-77.
13. Vogel JD, Johnson EK, Morris AM et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Anorectal Abscess, Fistula-in-Ano, and Rectovaginal Fistula. *Dis Colon Rectum*. 2016 Dec;59(12):1117-1133. No abstract available. PMID: 27824697.
14. Шельгин Ю.А., Благодарный Л.А. Справочник по колопроктологии. М.: Литтерра, 2012; 596 с.
15. Ommer A, Herold A, Berg E. et al. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis*. 2012; 27: 831-837.
16. Chang H, Kuo MC, Tang TC, Lin TL. et al. Clinical Features and Recurrence Pattern of Perianal Abscess in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Acta Haematologica*. 2017; 138(1):10–13. doi:10.1159/000475589.
17. Охмат В.А., Клясова Г.А., Паровичникова Е.Н. и соавт. Применение антибиотиков при фебрильной нейтропении у больных острыми лейкозами. *Клиническая онкогематология*. 2018; т.11, №1, с.100-109.
18. Штыркова С.В., Карагюлян С.Р., Гемдзян Э.Г., Данишян К.И. Перианальные инфекционные поражения, как проявления гемобластоза и апластической анемии. *Колопроктология*. 2019; т.18, №4(70), с.116-129. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2019-18-4-116-129>.

## REFERENCES

1. Klyasova, G.A. Antimicrobial therapy. In the book: Program treatment of blood system diseases. Edited by V.G. Savchenko. Moscow: Praktika Publ.; 2012. pp 829-853. (In Russ.)
2. Morcos B, Amarin R, Abu Sba A. et al. Contemporary management of perianal conditions in febrile neutropenic patients. *Eur J Surg Oncol*. 2013;39(4):404–7. doi: 10.1016/j.ejso.
3. Grewal H, Guillem JG, Quan SH, et al. Anorectal Disease in Neutropenic Leukemic Patients. Operative v s . Nonoperative Management. *Dis Colon Rectum*. 1994; 37:1095–1099; doi: 10.1007/BF02049810.
4. Haliloglu N, Gulpinar B, Ozkavukcu E. et al. Typical MR imaging findings of perianal infections in patients with hematologic malignancies. *Eur J Radiol*. 2017 Aug;93:284–288. doi: 10.1016/j.ejrad.2017.05.046.
5. Chen CY, Cheng A, Huang SY. et al. Clinical and microbiological characteristics of perianal infections in adult patients with acute leukemia. *PLoS One*. 2013; 8(4). doi:10.1371/journal.pone.0060624; <http://www.plosone.org> <http://www.pubmedcentral.gov/toctrender.fcgi?journal=440>.
6. Cohen JS1, Paz IB, O'Donnell MR et al. Treatment of perianal infection following bone marrow transplantation. *Dis Colon Rectum*. 1996 Sep;39(9):981-5.
7. Lehrnbecher T, Marshall D, Gao C. et al. A Second Look at Anorectal Infections in Cancer Patients in a Large Cancer Institute: The Success of Early Intervention with Antibiotics and Surgery. *Infection*. 2002; 30(5):272–276.
8. Sullivan PS, Moreno C. A Multidisciplinary Approach to Perianal and Intra-Abdominal Infections in the Neutropenic Cancer Patient. *Oncology (Williston Park)*. 2015 Aug;29(8):581-90. PMID: 26281844.
9. Solmaz S, Korur A, Gereklioğlu Ç, et al. Anorectal Complications During Neutropenic Period in Patients with Hematologic Diseases. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2016 Mar 1;8(1):e2016019. doi: 10.4084/MJHID.2016.019. eCollection 2016. PMID: 26977278.
10. Loureiro RV, Borges VP, Tom AL et al. Anorectal complications in patients with haematological malignancies. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jul;30(7):722-726. doi: 10.1097/MEG.0000000000001133.
11. Vanhueverzwyn R, Delannoy A, Michaux JL, et al. Anal lesions in hematologic diseases. *Dis Colon Rectum*. 1980;23:310-312.
12. Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Ntanishyan KI. et al. Perianal infection in patients with hemoblastosis: Risk factors and possibilities of prevention. *Terapevticheskij arkhiv*. 2016; no.7, pp.72-77. (In Russ.) DOI: 10.17116/terarkh201688772-77<https://goo.gl/EPSNID>
13. Vogel JD, Johnson EK, Morris AM et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Anorectal Abscess, Fistula-in-Ano, and Rectovaginal Fistula. *Dis Colon Rectum*. 2016 Dec;59(12):1117-1133. No abstract available. PMID: 27824697.
14. Shelygin Yu.A., Blagodarnyj L.A. *Spravochnik po koloproktologii*. [Coloproctology Handbook]. Moscow: Litterra, 2012: 596 p. (in Russ.).
15. Ommer A, Herold A, Berg E. et al. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis*. 2012; 27: 831-837.
16. Chang H, Kuo MC, Tang TC, Lin TL. et al. Clinical Features and Recurrence Pattern of Perianal Abscess in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Acta Haematologica*. 2017; 138(1):10–13. doi:10.1159/000475589.
17. Okhmat VA, Klyasova GA, Parovichnikova EN, et al. Antibiotic Treatment of Febrile Neutropenia in Patients with Acute Leukemia. *Clinical oncohematology*. 2018; v.11, no.1, pp. 100–9. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-100-109/ (in Russ.).
18. Shtyrkova S.V., Karagyulyan S.R., Gemdzhian E.G., Ntanishyan K.I. Perianal infections as first presentation of hemoblastosis and aplastic anemia. *Koloproktologia*. 2019; v. 18, no.4(70), pp. 116-129. (in Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2019-18-4-116-129>

# PERIANAL INFECTIOUS COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH GRANULOCYTOPENIA AND HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

Svetlana V.Shtyrkova, Galina A.Klyasova, Suren R.Karagyulyan, Eduard G.Gemdzhian, Karen I.Danishyan

National Research Center for Hematology (Novy Zykovsky proezd, 4, Moscow, 125167, Russia)

*AIM:* to study the perianal infection (PI) in patients with granulocytopenia (GCP) and hematological malignancies (HM).

*PATIENTS AND METHODS:* the prospective study (2016-2018) includes 95 episodes of PI in 76 patients with HM (male/female 35/44; mean age of 35 (17-69)). 43(54.4%) of the patients were detected to develop acute leukemia (AML – 34 (43%); ALL – 9(11.4%); NHL – 17(21.5%).

The comparison of PI episodes within the GCP period (number of granulocytes less than  $0.5 \times 10^9/l$ ) and without it was done.

*RESULTS:* PI episodes within the period of GCP were significantly much more often than those without GCP (77.9% vs 22.1%, relative risk 3.5 (95% CI: 2.4-5.2).

The biggest number of PI episodes in the setting of GCP was registered within the period of chemotherapy (ChT): in the phase of consolidation (28.4%) and induction (13.3%) of acute leukemia ChT and lymphomas' ChT (20.3%).

Anal fissures were the most frequent source of PI within GCP period (66.2% vs 19.1% without GCP,  $p < 0.001$ ).

Inflammatory changes in perianal tissues were clinical features of PI in the setting of GCP in 89.2% of the cases: inflammatory mass in 71.6% (vs 23.8% without GCP,  $p < 0.001$ ), abscess in 8.1% (vs 66.7% without GCP,  $p < 0.001$ ).

In 10.8% of the cases of PI with GCP only perianal pain and fever were registered. No tissues change was detected with the lowest WBC count (Me 0.2 (0.1-0.5)  $\times 10^9/l$ ). Bloodstream infections were detected in 15 (20.3%) episodes within the period of GCP only, of them in 6 (8.1%) cases the species matching of microorganisms in blood and in rectum was noticed.

Within the period of GCP antibacterial therapy was carried out in 98.6% of the cases: antibacterial therapy alone was applied in 87.8% of the episodes (vs 7.2% without GCP,  $p < 0.001$ ); both antibacterial therapy and surgical treatment were carried out in 10.8% (vs 61.9% without GCP,  $p < 0.001$ ) of the cases. Mean duration of antibiotic treatment of patients with GCP was drastically longer in the group of postoperative patients in comparison with the group of those who had conservative treatment (25.5 vs 15.1 days,  $p = 0.05$ ). Antimicrobial therapy within GCP period resulted into inflammation regress in 83.1% of the cases; abscess or fistula formation, hence surgical treatment in 13.8% of the cases; progression of infection in 3.1% of the cases. Increase of GCP duration up to 30 and more days is connected with bacteremia rate increase (12.5% vs 28%,  $p < 0.05$ ); combinations of PI with other infections (25% vs 52%,  $p < 0.05$ ); requirement of antimicrobial therapy modification (16.7% vs 40%,  $p < 0.05$ ).

*CONCLUSION:* GCP significantly raises risk of PI. PI that develops in the setting of GCP, is characterized by abnormal, often low clinical manifestations and high risk of sepsis.

Invasion of microorganisms through affected tissue seals is the basic mechanism of perianal infection within the period of GCP. Antibacterial therapy is the prior method of PI treatment in the settings of GCP; antibacterial therapy efficiency is 83.1%. Need for surgery in the period of GCP is associated with the infectious episode and antibacterial therapy duration increase. Lengthening of GCP is a negative predictor in PI treatment.

**[Key words: perianal infection, abscess, leukemia, agranulocytosis, granulocytopenia, neutropenia, hemoblastosis]**

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

The study had no source of funding.

For citation: Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Karagyulyan S.R., Gemdzhian E.G., Ntanishyan K.I. Perianal infectious complications in patients with granulocytopenia and haematological malignancies. *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 10-31. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-10-31>

Address for correspondence: Shtyrkova S.V., National Research Center for Hematology, Novy Zykovsky proezd, 4, Moscow, 125167, Russia; +7(916)136-04-21, +7(495)612-61-91; e-mail: sv-styrkova@mail.ru

Received – 01.08.2020

Revised – 10.09.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## LIST OF ABBREVIATIONS

AA – aplastic anemia

BLES - extended-spectrum  $\beta$ -lactamases

GCP – granulocytopenia

MM – multiple myeloma

MRI - magnetic resonance imaging

ALL – acute lymphoblastic leukemia

AML – acute myeloid leukemia

PI – perianal infection

CT – chemotherapy

## INTRODUCTION

The leading factor in the development of infectious complications in oncohematology is granulocytopenia (GCP). The rate of infectious complications increases with a decrease in the number of granulocytes less than  $1.0 \times 10^9/L$ , and significantly increases with granulocytes less than  $0.5 \times 10^9/L$ . Under these conditions, microorganisms that colonize the mucous membranes and are not pathogenic can penetrate damaged tissue barriers and cause infections, including bacteremia [1].

GCP can be either a manifestation of the hematological disease itself or a consequence of antitumor therapy. The frequency of infectious lesions of perianal tissues in oncohematological patients during GCP reaches 10.8% [2].

The absence of granulocytes significantly changes not only the occurrence, but also the clinical manifestations of infectious processes. The formation of inflammatory changes in tissues may be delayed and have atypical forms.

To describe infections in the perianal area in such patients, the term "anoanal" or "perianal infection" (PI) is used, which includes both perianal abscesses and fistulas, as well as other clinical forms, such as inflammatory mass, ulceration, necrosis, soft tissue damage due to the hematogenic spread of infection, etc. [3-9].

A peculiar feature of infectious processes occurring against the background of GCP is a combination of a poor clinical signs and local manifestations with a high frequency of sepsis and mortality [1].

Anoanal pain may be the only symptom of PI in patients with severe GCP [3]. The proportion of infectious complications that occur without a significant increase in body temperature in patients with oncohematological diseases receiving modern chemotherapy (CT) is 20-28% [1-3], especially often infectious processes without fever are observed against the background of steroid therapy.

Sepsis is registered in 20-33% of patients with PI and GCP [9,10]. PI is one of the causes of septic shock in patients with neutropenia [5,9].

Publications in the 1980s and 1990s showed a high mortality rate among patients with PI and GCP, reaching 50% [3, 11]. In recent studies, the mortality rate associated with PI does not exceed 5% [2,5,7,10,16]. The authors attribute the decrease in mortality to early diagnosis and early initiation of antimicrobial therapy, the use of stimulating factor colonies to reduce the duration of GCP [7].

Understanding the features of the infectious process in perianal tissues in patients with GCP, factors that

determine the prognosis is necessary to determine the optimal approach and successful treatment.

## AIM

To study the features of perianal infection (PI) in patients with granulocytopenia (GCP) and tumor diseases of the blood system.

## PATIENTS AND METHODS

The criteria for inclusion of patients in the study were: established diagnosis of hemoblastosis and the presence of PI signs. Patients were treated at the NMRC (the national medical research center) of Hematology (Moscow) from 2016 to 2018. We analyzed all the PI episodes for a given time period.

In accordance with the study protocol, a database was created, which included the following information: age, gender of the patient; diagnosis of hematological disease and stage of treatment; presence and duration of GCP; clinical manifestations of PI, duration of PI episode; treatment option; outcome of inflammation; data from laboratory and microbiological tests.

A severe degree of GCP was found with a decrease in the absolute number of granulocytes (neutrophils) less than  $0.5 \times 10^9/L$ .

To analyze and identify the value of GCP, all the PI episodes were divided into two groups: the first group – episodes that developed against the background of severe GCP; the second one - without GCP.

The presence of inflammation signs of the perianal tissue was evaluated clinically based on the patient's complaints, the presence of fever, local signs of PI in

**Table 1.** Characteristics of patients with perianal infection (PI)

Indicator	Number of patients, n(%)
Number of patients	79
Gender m/f	35/44
Age median (span) years	35(17-69)
Diagnosis	
Acute myeloid leukemia	34 (43)
Acute lymphoblastic leukemia	9 (11.4)
Non-Hodgkin's lymphomas	17(21.5)
Hodgkin's Lymphoma	6 (7.6)
Aplastic anemia	6 (7.6)
Multiple Myeloma	4 (5.1)
Others	3 (3.8)
Transferred from other hospitals	8(10.1)
Patients with 1 PI episode	67(84.8)
Patients with 2 PI episodes	8(10.1)
Patients with 3 PI episodes	4(5.1)



**Table 2.** Indication of PI cases in patients with and without GCP

Indicator	PI episodes, n (%)		p
	With GCP	Without GCP	
<b>Number of PI episodes</b>	<b>74</b>	<b>21</b>	
Connection with ChT:			
before the start of ChT	3(4.1)	6(28.6)	0,05
during ChT	55(74.3)	10(47.6)	
after the end of ChT	4(5.4)	4(19.0)	
ChT of acuteleukemia:			
induction	40(54.3)	7(33.3)	0.01
consolidation	14(18.9)	4(19.0)	
supportive therapy	21(28.3)	3(14.3)	
Lymphoma ChT	5(6.8)	0	
Allo-BMT	15(20.3)	3(14.3)	
Auto-BMT (bone marrow transplantation)	7(9.5)	0(0)	0.01
Remission of hemoblastosis	5(6.8)	1(4.8)	
Combination of PI episode with other infections	46(62.5)	10(47.6)	0.09
Blood stream infections	32(43.2)	4(19.0)	0.05
Septic shock	15(20.3)	0(0)	0.01
Development of a PI episode on the background of antibacterial therapy	2(2.7)	0(0)	0.60
Clinical manifestations:			
abscess	19(25.7)	0(0)	<0.001
inflammatory mass	6(8.1)	14(66.7)	
necrosis/ulcers	53(71.6)	5(23.8)	
pain	7(9.5)	2(9.5)	
Source of infection:			
anal crypts	8(10.8)	0(0)	<0.001
anal fissure	3(4.1)	7(33.3)	
fistulas	49(66.2)	4(19.1)	
postoperative wound	10(13.5)	7(33.3)	
others	2(2.7)	0	
	10(13.5)	3(14.3)	

\*Total of 95 PI episodes in 79 patients

the form of edema, hyperemia, and pain in the perianal area. In case of a clinically unclear diagnosis, the examination data were supplemented with visualization



**Figure 1.** Pelvic MRI. Patient P. Diagnosis: Acute Myeloid Leukemia, granulocytopenia. Pararectum edema

using magnetic resonance imaging (MRI) or computed tomography (CT).

MRI/CT signs of PI were the presence of cavities in the perianal tissues, fluid collections, defects in the anal wall and fistula tracts.

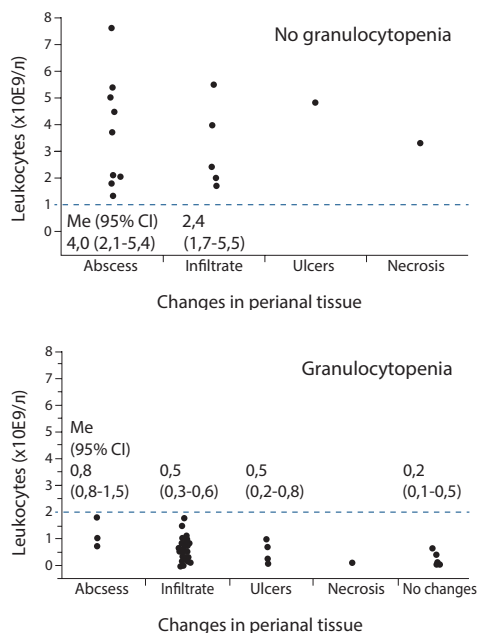
In patients with GCP, in the presence of clinical data, a sufficient MRI/CT sign of PI was considered to be the presence of edema of the perianaltissues. Sources of infection were evaluated separately based on examination or MRI / CT data.

Based on the data obtained, the clinical forms of PI were determined: abscess, inflammatory mass, or necrosis. In patients with severe GCP, the presence of pain in the perianal area and fever were considered sufficient signs of infection.

To identify the nature of the microflora, a microbiological test of smears from the anal mucosa was performed when the patient was admitted to the hospital, the test was repeated when the focus of infection was detected, and antimicrobial therapy was monitored.

At a temperature of more than 38°C, blood was taken





**Figure 2.** Comparison of changes in perianal tissue in patients with perianal infection in the group with GCP (lower figure) and without GCP (upper figure). The highest level of white blood cells was observed in abscess (both in patients with GCP: median test,  $p=0.05$ , and in patients without GCP); the lowest level of white blood cells was observed in patients with PI who had no visible changes in the perianal tissue.

from the vein and the hemoculture was examined. When considering PI as a possible source of infection in sepsis, the type of microorganisms isolated from the rectum and blood was taken into account. If PI was detected in patients with GCP, intravenous antibiotics were used. For initial antibacterial therapy, beta-lactam antibiotics with beta-lactamase inhibitors (piperacillin/tazobactam or cefoperazone/sulbactam) or carbapenem with anti-pseudomonas activity (imipenem/cilastin, meropenem, doripenem) were used. Modification of antibacterial therapy was performed according to clinical data (with persistent febrile neutropenia and local signs of inflammation) and the results of microbiological tests. Antibiotic treatment was considered effective in registering normal body temperature and reducing clinical symptoms of inflammation. Indications for surgery were considered to be the presence of abscesses, foci of necrosis and tissue destruction. The drainage of the abscesses, necrotomy were performed. In some cases (pelvic phlegmon), opening and drainage were combined with colostomy. The statistical analysis was carried out using the database created for this study, and included the

construction of feature distributions, verification of statistical homogeneity of samples (Wilcoxon rank criterion), frequency analysis, correlation analysis, and multivariate analysis (logistic regression). Continuous data is presented as mean (with a span) or medians (with a span or 95% of coincidence interval), depending on the type of distribution, while categorical data is presented as frequencies and percentages.

## RESULTS

Ninety-five episodes of PI were studied in 79 patients (44 females). The median age of patients was 35 years (ranging from 17 to 69 years). Most patients were diagnosed with acute leukemia – 43 (54.4%) and non-Hodgkin's lymphoma – 17 (21.5%).

During the follow-up period, 67 (84.8%) patients had one PI episode, 12 (15.2%) patients had two or more PI episodes (Table 1).

PI episodes during GCP were statistically significantly more often than those without GCP: 74 (77.9%) vs 21 (22.1%), relative risk 3.5 (95% CI: 2.4-5.2), two-sided Fisher's exact test (Table 2). A significant number of PI episodes developed in remission of the hematological disease in both patients with GCP (62.5%) and those without GCP (47.6%).

The greatest number of PI episodes on the background of GCP was observed during ChT (74.3%); more often at the stages of consolidation and induction of ChT of acute leukemia (28.4% and 13.3%, respectively) and ChT of lymphoma 20.3%. The PI episodes that occurred after BMT were also more often combined with GCP (allo-BMT 9.5% vs. 0, auto-BMT 6.8% vs. 4.8%;  $p=0.01$ ). The PI episodes occurring without GCP predominated in the onset of hematological disease before the start of ChT (28.6% vs. 4.1%) and after the end of ChT (19.0% vs. 5.4%).

Patients with GCP were characterized by a combination of PI with other infectious complications (43.2%, versus 19% in patients without GCP,  $p=0.05$ ). In the group with GCP, blood infections during PI were registered in 15 (20.3%) patients, 2 of them developed septic shock. Blood infections were not detected in the group without GCP.

In patients with severe GCP, local signs of inflammation in perianal tissues were clinically detected in 66 (89.2%) of 74 patients. The most often manifestation of PI in patients with GCP was inflammatory mass (71.6%). Necrosis/ulcers of the perianal tissues were observed in 7 (9.5%) cases, and abscess formation in 6 (8.1%). In 8 (10.8%) PI episodes, only perianal pain and fever were recorded, without inflammatory changes in soft tissues. According to MRI data, these patients showed signs of edema of perianal tissues (Fig.1).



**Figure 3.** Granulocytopenia. Anal fissure is the source of infection

In patients without GCP, changes in the tissues were present in all observations. Abscesses predominated in this group (66.7%).

When comparing the number of granulocytes in patients with various forms of PI, it was noted that the highest level of white blood cells was detected in patients with abscesses (both in patients with GCP and without GCP). The lowest number of white blood cells (median  $0.2 (0.1-0.5) \times 10^9/l$ ) was observed in patients with PI who had no visible changes in the perianal tissues (Fig.2). Significant differences between the groups concerned the sources of infection of the perianal tissue. The classic pathogenesis of perianal abscess was typical for PI episodes without GCP: the most common source of infection was anal crypts (33.3% vs. 4.1%;  $p < 0.001$ ), fistulas (33.3% vs. 13.5%;  $p < 0.001$ ) (Table 2).

In patients with GCP, in most cases, inflammation was formed around defects in the walls of the anal canal or perianal skin: infection of anal fissures was more often noted (Fig.3) (66.2% vs. 19.1%;  $p < 0.001$ ), and ulcers of the perianal skin - 13.5%. In two cases, the sources of infection were postoperative wounds. Cryptogenic perianal infection made up only 4.1% of PI episodes with GCPs.

Table 3 shows the spectrum of microorganisms isolated at the time of PI development from the rectum and from the blood. A total of 111 microorganisms were isolated, among which enterobacteria prevailed (64%) due to *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* In 5 (4.5%) cases, *Pseudomonas aeruginosa* was detected on the anal mucosa.

Colonization of the intestinal mucosa by enterobacteria with the production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) was 40.5%, and vancomycin-resistant strains of *Enterococcus faecium* - 13.5%.

Bacteremia was detected in 15 PI episodes, in all cases against the background of GCP. In 6 observations, the species correspondence of microorganisms isolated from the rectum and blood was noted. Thus, PI was a microbiologically proven source of sepsis in 6 (8.1%) of 74 patients.

Antibacterial therapy was the main method of treatment of PI in the study and was used in 88 (92.6%) of 95 EPI (Table 4). Only antibacterial therapy as a treatment for PI was used mainly during the period of GCP (87.8% vs. 23.8%;  $p < 0.05$ ). In 21 (22.1%) cases, the first stage of PI treatment was urgent surgery.

**Table 3.** Diversity of microorganisms in blood and in rectum detected via PI diagnostics

Microorganisms	Selection locus		Coincidence of microorganisms isolated from the rectum and blood n=6
	Microorganisms in rectum n=111	Microorganisms in blood n=15	
Gramnegative bacteria	76(68.5)	12(75.0)	0
<i>Enterobacteria ceae</i>	71(64)	8(50.0)	0
<i>Escherichia coli</i>	47(42.3)	5(31.3)	2
Of them with the production of ESBL	26(23.4)	2(12.5)	1
<i>Klebsiella spp</i>	15(13.5)	3(18.7)	0
Of them with the production of ESBL	14(12.6)	2(12.5)	2
Other Enterobacteria	9(8.1)	0	0
Of them with the production of ESBL	5(4.5)	0	0
Total with the production of ESBL	45(40.5)	4(25.0)	3
Non-fermenting bacteria			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5(4.5)	4(25)	1
Grampositive bacteria	18(16.2)	3(18.8)	
<i>Enterococcus spp</i>	18(16.2)	3(18.8)	1
<i>Enterococcus faecium</i>	15(13.5)	0	0
vancomycin-resistant			
Candida			
Candida spp	17(15.3)	0	0

**Table 4.** Variants of PI treatment

Variants of PI treatment	Number of PI episodes, n (%)			p
	Total n=95	With GCP n=74	Without GCP n=21	
Antibacterial therapy	70(73.7)	65(87.8)	5(7.2)	<0.001
Combination of surgery and antibacterial therapy	18(19.9)	8(10.8)	10(47.6)	0.001
Only surgeries	3(3.2)	0	3	0.01
Surgery types				
opening the abscess	19(20.0)	6(8.1)	13(61.9)	<0.001
opening the phlegmon of the pelvis, a colostomy	1(1.1)	1(1.4)	0(0)	
excision of the fistula	1(1.1)	1(1.4)	0(0)	
Total operated on	21(22.1)	8(10.8)	13(61.9)	<0.001
Only local treatment was performed	4(4.2)	1(1.4)	3(14.3)	0.03

**Table 5.** Antibiotic treatment outcomes in patients with PI

Indicator	Number of PI episodes, n (%)		p
	With GCP n=74	Without GCP n=21	
Administration of starting antibacterial therapy:			0.01
cefoperazone / sulbactam	73 44(60.3)	15 5(33.3)	
carbapenems	20(27.4)	0	
Other antibiotics*	9(12.3)	10(66.7)	
Replacing start-up antibiotics with carbapenems	17(23)	2(13.3)	0.15
Use of carbapenems	37(50.7)	2(13.3)	0.01
Effectiveness of cefoperazone / sulbactam:			0.01
in monotherapy mode	7(16)	3(60)	
in combination with amikacin	13(29.5)	1(20)	
in combination with other medications**	7(16)	1(20)	
Effectiveness of carbapenems:			0.001
in monotherapy mode	8(21.6)	1(50)	
in combination with amikacin	9(24.3)	0(0)	
in combination with other medications**	15(40.5)	1(50)	
Effectiveness of other antibiotics*	2(22.2)	8(80)	0.001
Overall effectiveness of antibacterial therapy	61(83.6)	15(100)	0.37
Average (range) duration of antibacterial therapy, days	16,1(3-67)	13,1(1-27)	0.19

\*ciprofloxacin, mixofloxacin and amoxiclav, \*\*vancomycin, linezolid and tygacil

The majority of patients were operated on outside of GCP (61.9% vs. 10.8%,  $p < 0.05$ ). Cases of spontaneous regression of inflammation (1 in the group with GCP and 3 without GCP) were associated with the restoration of the number of white blood cells and local use of antiseptics.

Table 5 shows an analysis of the antibacterial therapy of PI. For the treatment of PI, antibiotics were more often prescribed during the period of GCP (98.6% vs. 71.4%). In patients with GCP, cefoperazone/sulbactam (60.3% vs. 33.3%) and carbapenems (27.4% vs. 0%) were used as the starting antimicrobial therapy significantly ( $p=0.05$ ) more often. The drugs were administered only parenterally. It should be noted that in this group in 19(25.7%) of 74 episodes, the development of PI occurred against the background of antibacterial therapy for other infectious complications, and in

two cases septic shock developed. For this reason, carbapenems were often the starting therapy for PI.

In the group of patients without GCP, antibacterial therapy was more often complementary to surgery. Starting antibacterial therapy in most episodes (66.7%) was performed with such drugs as ciprofloxacin, mixofloxacin, amoxiclav, which were prescribed both orally and parenterally.

These drugs were quite effective only in the group without GCP (80% vs. 22.2%,  $p=0.05$ ).

When PI was combined with GCP, the effectiveness of antibiotic monotherapy was significantly lower ( $p=0.05$ ) than in the group without GCP for both cefoperazone/sulbactam (16% vs. 60%) and carbapenems (21.6% vs. 50%).

The addition of other antimicrobial drugs to first-line antibiotics was used in 48 (55.2%) cases, more often in

**Table 6.** Conservative and surgical treatment outcomes in patients with PI

Indicator	With GCP, n (%)		Without GCP, n (%)		p
	Operated on	Conservative lytreated	Operated on	Conservative lytreated	
Number of PI episodes	8	66	13	8	
Administration of antibiotics	8(100)	65(98.5)	10(76.9)	5(62.5)	<0.001
Regression of inflammatory symptoms	7(87.5)	54(83.1)	13(100)	7(87.5)	<0.001
The formation of an abscess/fistula	0(0)	9(13.8)	0 (0)	1 (12.5)	0.27
Progression of PI	1(12.5)	2(3.1)	0 (0)	0 (0)	0.19
Average (span) duration of an infectious episode, days	25,5(5-54)	15,1(1-67)	11,2(1-21)	15,2(3-27)	0.01

\* frequency distributions are compared in the presence and absence of GCP

**Table 7.** Outcomes of PI treatment according to GCP duration

Indicator	GCP duration, days		
	1-14	15-30	>30
Number of PI episodes	24	25	24
Administration of antibacterial therapy, n	23	25	25
A/b therapy modification, n (%)	4(16.7)*	6(24)	10(40)*
Administration of carbapenems, n (%)	9(37.5)	12(48)	13(52)
PI progression, n (%)	0(0)	0(0)	2(8)
Combination of PI with other infections, n (%)	6(25) **	15(60)	13(52) **
Bacteremia, n (%)	3(12.5) ***	5(20)	7(28) ***
Average duration of antibacterial therapy, days	8.3#	12.9	23.1#

\*, \*\*, \*\*\*, # – the difference is statistically significant ( $p < 0.05$ )

patients with GCP (69.9% vs. 20%). Amikacin was used more often - 58.3%; vancomycin - 19.4%; antimycotics - 27.8%.

In the group of patients with GCP, when amikacin was added, treatment was more often successful when cefoperazone/sulbactam was prescribed (17.8% vs. 9.6%). The addition of vancomycin (or linezolid) increased the cure rate for carbapenems (20.5% vs. 11%,  $p=0.05$ ).

The carbapenem use at all stages of therapy was higher when PI was combined with GCP (50.7% vs. 13.3%;  $p=0.05$ ).

To evaluate the results of treatment, an analysis of subgroups of operated and non-operated patients was performed (Table 6).

Antibiotic therapy of PI during GCP resulted in regression of signs of inflammation in tissues in 83.1% of cases; in 13.8% of cases, abscesses or fistulas that required surgery appeared during neutrophil recovery.

Among the operated patients with GCP, the regression of inflammatory symptoms was achieved in 87.5% of cases. It should be noted that in the group of patients with GCP, all operations were combined with antibacterial therapy. On average, the duration of antibacterial therapy was significantly longer in the group of operated patients with GCP than in the group treated conservatively (on average, 25 days versus 15,  $p=0.05$ ).

When analyzing the factors that affect the recovery rate and the duration of therapy, the duration of the GCP period was of great importance (Table 7).

With an increase in the period of GCP to over 30 days, the rate of combination of PI with other infectious complications significantly increases from 25% to 60% ( $p < 0.05$ ). At the same time, PI is significantly more often accompanied by bacteremia (GCP up to 30 days - 12.5%, with GCP over 30 days - 28%;  $p < 0.05$ ), the need for modification of antibiotic therapy (16.7 vs. 40%;  $p < 0.05$ ) and the duration of antibiotic use (8.3 vs. 23.1 days;  $p < 0.05$ ).

No effect and progression of infection was observed in two patients with a duration of GCP of more than 30 days.

However, PI was not a direct cause of death in the study.

## DISCUSSION

GCP has a decisive influence on the infectious complications rate in the Hematology unit. In 74(77.9%) of the 95 episodes in this study, PI developed during the period of GCP.

Similar data were demonstrated among patients examined in the NMRC of Hematology from 2009 to 2015 [12]. Most PI episodes during the period of GCP (74.3%) developed against the background of ChT courses.





**Figure 4.** Pelvic CT image. Patient L. Diagnosis: non-Hodgkin's lymphoma. Patient's status in the setting of high-dose chemotherapy, granulocytopenia. Rectum perforation, pararectal cavity containing gas

The inflammation of perianal tissues formed on the background of GCP has peculiar features that differ significantly from perianal infection in immunocompetent patients [8,13].

The generally accepted explanation for the pathogenesis of perianal abscess, as well as perianal fistulas, is inflammation of the perianal tissue caused by the spread of the inflammatory process from the anal crypts and anal glands [13-15].

In the study, the absolute number of cryptogenic perianal infections was equal in both groups (13 vs. 14).

However, in patients with GCP, classical cryptogenic perianal abscesses (4.1%) and exacerbations of perianal fistulas against the background of existing perianal fistulas (13.5%) represented only a small proportion of PI cases.

In most cases, the infectious process in the perianal tissue during the period of GCP was an inflammation that formed around defects in the anoderm and perianal skin (Fig.3).

The absence of neutrophils determines the possibility for the appearance of additional mechanisms of infection - the spread of bacterial flora into the tissues and blood, both from the intestinal mucosa, and through skin damage to the anal canal and perianal area [1,8,12].

Therefore, in conditions of neutropenia, anal fissures, ulcers, erosive proctitis, dermatitis, and other processes that violate the barrier function of the skin and mucosa become frequent sources of infection of the perianal tissues [1,5,12].

There is no classification of changes in perianal tissues associated with GCP in the literature. In most publications abscesses, infiltrative inflammation, necrotic and ulcerative lesions are distinguished. According to the study that included patients with severe

neutropenia and leukemia, anal pain (86%) is the most common manifestation of PI; tissue changes in the form of hyperemia and cellulite are present in 42%, and pus collection is rare (13.5%) [3]. In this study, inflammation during the period of GCP in most cases was represented by inflammatory mass (71.8%) and tissue necrosis (10.8%). It should be noted that abscess formation is a rare but possible manifestation of PI in GCP [6]. In this study, 6 (8.1%) of 74 PI episodes showed the formation of cavities in the perianal tissue during the period of GCP. The contents of such cavities were pus, and in the presence of a defect in the intestinal wall – faeces or gas (Fig.4). Along with the forms of PI presented above, in some patients with severe GCP, it is impossible to visualize clear signs of infection that would be present in an immunocompetent patient [8]. In our study, 10.8% of PI episodes in patients with GCP occurred with severe pain, but without the classic signs of inflammation. Changes in the tissues were detected only by MRI imaging. The study of the relationship between the number of white blood cells and clinical forms of PI showed that the absence of visible changes in the tissues was at the lowest number of white blood cells (median 0.2 (0.1-0.5)  $\times 10^9/l$ ) (Fig.2).

Thus, in some cases, the use of only clinical evaluation can be misleading [4]. Accurate data on the nature of changes in tissues are important, as they are the basis for choosing treatment tactics. GCP does not exclude the presence of cavities that require rapid drainage. The priority method of additional examination is MRI [4,8,13,14]. The most common microorganisms cultured from the blood and rectum in PI are enterobacteria and enterococci [3,5,7,16]. The predominance of enterobacteria as pathogens distinguishes PI from other types of skin and soft tissue infections, which are caused by streptococci or staphylococci [5]. In this study, among the pathogens of PI isolated from the rectum, the predominance of enterobacteria 63.96% was noted due to the strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.*

In recent years, there has been a trend to increase the number of infectious complications caused by gram-negative polyresistant microorganisms [1,5].

In this study, colonization of the intestinal mucosa with resistant strains was detected in 54% of cases, of which enterobacteria with ESBL production accounted for 40.5% and vancomycin-resistant strains of *Enterococcus faecium* 13.5%.

It should be noted that patients with GCP are characterized by a combination of infections and septic nature of infectious complications. In this study, blood infections were reported only in patients with GCP. PI was a microbiologically proven source of sepsis in 8.1% of the cases.



An important feature of PI treatment is the need to take into account many factors that determine approach. These factors include the form of inflammation, the presence or absence of indications for surgical treatment, the presence of GCP, its expected duration, the severity of the patient's condition, the presence of other infectious complications, and the therapy performed at the time of PI registration.

If the treatment of perianal acute abscess in immunocompetent patients is only surgical [13,14], then the presence of PI in patients with GCP is an indication for the urgent initiation of antibacterial therapy. The results of a number of studies confirm the possibility of successful treatment of PI in such patients with broad-spectrum antibiotics [2,5,10,16]. In the study, the need for antibacterial therapy in GCP was in all cases, both in the group of operated and non-operated patients.

Only antimicrobial therapy for GCP was performed in 87.8% of the cases, in combination with surgery - in 10.8%.

We follow an escalating approach to antimicrobial therapy, which involves prescribing cefoperazone/sulbactam or piperacillin/tazobactam, active against *Enterobacteriaceae* bacteria at the initial stage of infection [17]. Further modification of therapy is carried out according to the results of microbiological studies. The reason for the appointment of carbapenems as the starting therapy for PI (27.4% of cases) was the presence of sepsis, septic shock, and the development of PI against the background of already ongoing antibacterial therapy.

The low effectiveness of both  $\beta$ -lactam antibiotics and carbapenems in the monotherapy mode was a feature of the antibacterial therapy of PI in the conditions of neutropenia. The addition of other antimicrobials was required in 70.8% of cases.

Antibacterial therapy of PI in patients without GCP was successfully performed in the mode of monotherapy with  $\beta$ -lactam antibiotics, fluoroquinolones, and amoxiclav. Oral medication was also possible in this group of patients.

Among the factors that influence the prognosis of PI and the strategy of antibacterial therapy, the duration of the GCP period is of great importance [7,17,18].

In our study, with an increase in the duration of GCP from 1-14 to over 30 days were associated an increase in the bacteremia rate (12.5% vs. 28%  $p < 0.05$ ), a combination of PI with other infections, the need for modification of antibacterial therapy (16.7% vs. 40%  $p < 0.05$ ), and the duration of antibiotic use (8.3 vs. 23.1 days;  $p < 0.05$ ).

The need for surgery in patients with GCP occurs in the presence of cavities or foci of tissue destruction. In patients with GCP, antimicrobial therapy should be

started simultaneously with surgery and continued in the postoperative period until the signs of infection completely disappear.

With this approach, there were no significant complications associated with surgery, including in patients with GCP [7,8]. However, surgery in the period of GCP is associated with an increase in the duration of the infectious episode and antibacterial therapy.

## CONCLUSION

The GCP significantly increases the risk of PI. PI developed under the conditions of GCP is characterized by atypical, often poor clinical manifestations and a high risk of sepsis. Most PI episodes in patients with GCP are not associated with the classic cryptoglandular mechanism of perianal abscess formation. The main mechanism of infection of perianal tissue during GCP is the penetration of microorganisms through damaged tissue barriers. Antibacterial therapy is a priority method of treating PI in the conditions of GCP; the effectiveness of antibacterial therapy was 83.1%. The need for surgical treatment during GCP is associated with an increase in the duration of an infectious episode and antibacterial therapy. An increase in the GCP duration is an unfavorable predictor in the PI treatment.

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Ntanishyan K.I.*

Collection and processing of the material: *Shtyrkova S.V., Klyasova G.A.*

Statistical processing: *Gemdzhian E.G., Shtyrkova S.V.*

Writing of the text: *Shtyrkova S.V., Klyasova G.A.*

Editing: *Ntanishyan K.I., Karagyulyan S.R.*

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Shtyrkova Svetlana Vitalievna - PhD., coloproctologist of the surgical Department of the National Research Center for Hematology. E-mail: [sv-styrkova@mail.ru](mailto:sv-styrkova@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4272-8433>

Klyasova Galina Alexandrovna - PhD, MD, professor, head of clinical diagnostic laboratory of clinical bacteriology, mycology and antibiotic therapy of the National Research Center for Hematology. E-mail: [klias@blood.ru](mailto:klias@blood.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Karagyulyan Suren Rolandovich - PhD, MD, consultant of the Directorate of the National Research Center for Hematology. E-mail: [ksr@blood.ru](mailto:ksr@blood.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5669-6639>

Gemdzhian Eduard Georgievich - senior researcher of the laboratory of biostatistics of the

National Research Center for Hematology. E-mail: [edstat@mail.ru](mailto:edstat@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8357-977X>  
Danishyan, Karen Ismailovich, PhD, MD, head of sci-

entific clinical department of surgery, deputy Director General of the National Research Center for Hematology. E-mail: [ntanisian@gmail.ru](mailto:ntanisian@gmail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6732-8286>

## REFERENCES

1. Klyasova, G.A. Antimicrobial therapy. In the book: Program treatment of blood system diseases. Edited by V.G. Savchenko. Moscow: Praktika Publ.; 2012. pp 829-853. (In Russ.)
2. Morcos B, Amarin R, Abu Sba A. et al. Contemporary management of perianal conditions in febrile neutropenic patients. *Eur J Surg Oncol*. 2013;39(4):404–7. doi: 10.1016/j.ejso.
3. Grewal H, Guillem JG, Quan SH, et al. Anorectal Disease in Neutropenic Leukemic Patients. Operative v s . Nonoperative Management. *Dis Colon Rectum*. 1994; 37:1095–1099; doi: 10.1007/BF02049810.
4. Haliloglu N, Gulpinar B, Ozkavukcu E. et al. Typical MR imaging findings of perianal infections in patients with hematologic malignancies. *Eur J Radiol*. 2017 Aug;93:284–288. doi: 10.1016/j.ejrad.2017.05.046.
5. Chen CY, Cheng A, Huang SY. et al. Clinical and microbiological characteristics of perianal infections in adult patients with acute leukemia. *PLoS One*. 2013; 8(4). doi:10.1371/journal.pone.0060624; <http://www.plosone.org> <http://www.pubmedcentral.gov/tocrender.fcgi?journal=440>.
6. Cohen JS1, Paz IB, O'Donnell MR et al. Treatment of perianal infection following bone marrow transplantation. *Dis Colon Rectum*. 1996 Sep;39(9):981-5.
7. Lehrnbecher T, Marshall D, Gao C. et al. A Second Look at Anorectal Infections in Cancer Patients in a Large Cancer Institute: The Success of Early Intervention with Antibiotics and Surgery. *Infection*. 2002; 30(5):272–276.
8. Sullivan PS, Moreno C. A Multidisciplinary Approach to Perianal and Intra-Abdominal Infections in the Neutropenic Cancer Patient. *Oncology (Williston Park)*. 2015 Aug;29(8):581-90. PMID: 26281844.
9. Solmaz S, Korur A, Gereklioğlu Ç, et al. Anorectal Complications During Neutropenic Period in Patients with Hematologic Diseases. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2016 Mar 1;8(1):e2016019. doi: 10.4084/MJHID.2016.019. eCollection 2016. PMID: 26977278.
10. Loureiro RV, Borges VP, Tom AL et al. Anorectal complications in patients with haematological malignancies. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jul;30(7):722-726. doi: 10.1097/MEG.0000000000001133.
11. Vanhueverzwyn R, Delannoy A, Michaux JL, et al. Anal lesions in hematologic diseases. *Dis Colon Rectum*. 1980;23:310-312.
12. Shtyrkova S.V., Klyasova G.A., Ntanishyan KI. et al. Perianal infection in patients with hemoblastosis: Risk factors and possibilities of prevention. *Terapevticheskij arkhiv*. 2016; no.7, pp.72-77. (In Russ.) DOI: 10.17116/terarkh201688772-77<https://goo.gl/EPSNID>
13. Vogel JD, Johnson EK, Morris AM et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Anorectal Abscess, Fistula-in-Ano, and Rectovaginal Fistula. *Dis Colon Rectum*. 2016 Dec;59(12):1117-1133. No abstract available. PMID: 27824697.
14. Shelygin Yu.A., Blagodarnyj L.A. *Spravochnik po koloproktologii*. [Coloproctology Handbook]. Moscow: Litterra, 2012: 596 p. (in Russ.).
15. Ommer A, Herold A, Berg E. et al. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis*. 2012; 27: 831-837.
16. Chang H, Kuo MC, Tang TC, Lin TL. et al. Clinical Features and Recurrence Pattern of Perianal Abscess in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Acta Haematologica*. 2017; 138(1):10–13. doi:10.1159/000475589.
17. Okhmat VA, Klyasova GA, Parovichnikova EN, et al. Antibiotic Treatment of Febrile Neutropenia in Patients with Acute Leukemia. *Clinical oncohematology*. 2018; v. 11, no.1, pp. 100–9. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-100-109/ (in Russ.).
18. Shtyrkova S.V., Karagyulyan S.R., Gemdzhan E.G., Ntanishyan K.I. Perianal infections as first presentation of hemoblastosis and aplastic anemia. *Koloproktologia*. 2019; v. 18, no.4(70), pp. 116-129. (in Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2019-18-4-116-129>

## ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА С ПОМОЩЬЮ ДЕТЕКЦИИ ТКАНЕ-СПЕЦИФИЧНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ НАНО-ВАЗИКУЛ

Назарова И.В.<sup>1,2</sup>, Никифорова Н.С.<sup>1,2</sup>, Сидина Е.И.<sup>1,2</sup>, Слюсаренко М.А.<sup>1,2</sup>, Котова З.С.<sup>1</sup>, Семиглазова Т.Ю.<sup>1,4</sup>, Служев М.А.<sup>5,1</sup>, Семиглазов В.В.<sup>5,1</sup>, Гоголев А.Б.<sup>1</sup>, Артемьева А.С.<sup>1</sup>, Рыбаков Е.Г.<sup>3</sup>, Малек А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (пос. Песочный, ул. Ленинградская, д.68, г.Санкт-Петербург, 197758, Россия)

<sup>2</sup>ООО «Онко-система» (ул.Луговая, д.4, территория инновационного центра Сколково, г.Москва, 143026, Россия)

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (ул. Саляма Адила, д.2, г.Москва, 123423, Россия)

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Кирочная улица, д.41, г.Санкт-Петербург, 191015, Россия)

<sup>5</sup>ФГБУ «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» (ул.Льва Толстого, д.6-8, г.Санкт-Петербург, 197022, Россия)

*Разработка методов эффективной диагностики и мониторинга терапии колоректального рака (КРР) является актуальной научной задачей. В состав циркулирующей плазмы входят внеклеточные нано-везикулы (ВНВ), секретируемые, преимущественно, клетками крови и эндотелия. Минорная фракция ВНВ плазмы продуцируется клетками различных тканей, включая клетки кишечного эпителия. Биохимический состав таких везикул должен иметь ткане-специфические особенности. Целью представленной работы являлся поиск поверхностных маркеров везикул, секретируемых клетками кишечного эпителия, и оценка возможности выделения и количественного анализа таких везикул с целью диагностики КРР. В исследовании были использованы клеточные линии (HCT-116, HT-29, COLO-320, HuTi-80, SW837), плазма пациентов с КРР и здоровых доноров. Методы анализа траекторий нано-частиц, атомно-силовой микроскопии, дот-блоттинга и проточной цитометрии применялись для исследования ВНВ. С помощью оригинальной технологии иммуносорбции было показано, что концентрация ВНВ, на поверхности которых экспрессируются белки CLRN3, GAL4 и Merpn A, в плазме пациентов с КРР выше, чем в плазме здоровых доноров. На основе количественного анализа таких ВНВ могут быть разработаны новые методы диагностики и мониторинга терапии КРР.*

[Ключевые слова: колоректальный рак, внеклеточные нано-везикулы, ткане-специфические маркеры, экзосомы, диагностика]

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Назарова И.В., Никифорова Н.С., Сидина Е.И., Слюсаренко М.А., Котова З.С., Семиглазова Т.Ю., Служев М.А., Семиглазов В.В., Гоголев А.Б., Артемьева А.С., Рыбаков Е.Г., Малек А.В. Возможности диагностики колоректального рака с помощью детекции ткане-специфических внеклеточных нано-везикул. *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 32-56. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-32-56>

## COLORECTAL CANCER DIAGNOSTICS VIA DETECTION OF TISSUE-SPECIFIC EXTRACELLULAR NANO-VESICLES

Inga V.Nazarova<sup>1,2</sup>, Nadezhda S.Nikiforova<sup>1,2</sup>, Elena I.Sidina<sup>1,2</sup>, Maria A.Slyusarenko<sup>1,2</sup>, Zarina S.Kotova<sup>1</sup>, Tatyana Yu.Semiglazova<sup>1</sup>, Maksim A.Sluzhev<sup>1</sup>, Vladislav V.Semiglazov<sup>5,1</sup>, Artyom B.Gogolev<sup>1</sup>, Anna S.Artemyeva<sup>1</sup>, Evgeny G.Rybakov<sup>3</sup>, Anastasia V.Malek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of Russia (Leningradskaya str., 68, Pesochny, St. Petersburg, 197758, Russia)

<sup>2</sup>Onco-System Co Ltd. (Lugovaya str., 4, building 9, office 16, The innovation center "Skolkovo", Moscow, 143026, Russia)

<sup>3</sup>Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

<sup>4</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kirochnaya str., 41, Saint-Petersburg, 191015, Russia)

<sup>5</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (L.Tolstogo str., 6/8, St.-Petersburg, 197089, Russia)

*The development of methods for effective diagnosis and monitoring of colorectal cancer (CRC) treatment is one of the basic scientific problem. The circulating plasma contains extracellular nanovesicles (EVs) secreted mainly by blood and endothelial cells. The minor fraction of plasma EVs is produced by cells of various tissues, including cells of the intestinal epithelium. The biochemical composition of such vesicles should have tissue-specific features. Presented study was aimed to identify surface markers of EVs secreted by intestinal epithelium cells and to assess the possibility of isolating and quantification of such vesicles for the diagnosis of CRC. The cell cultures (HCT-116, HT-29, COLO-320, HuTu-80, SW837), plasma of CRC patients and healthy donors were used in the study. The methods of nanoparticle tracking analysis (NTA), atomic force microscopy (AFM), dot-blotting and flow cytometry were applied for EVs characterization. With the original technology of immunosorption we have demonstrated an increased amount of CLRN3, GAL4 and Meprin A, i.e. positive EVs in plasma of CRC patients comparing to healthy donors. Based on the quantitative analysis of such EVs, new methods of diagnostics and monitoring of CRC therapy can be developed.*

**[Key words: colorectal cancer, extracellular nanovesicles, tissue-specific markers, exosomes, diagnostics]**

**CONFLICTS OF INTERESTS: The authors declare no conflicts of interest.**

For citation: Nazarova I.V., Nikiforova N.S., Sidina E.I., Slyusarenko M.A., Kotova Z.S., Semiglazova T.Yu., Sluzhev M.A., Semiglazov V.V., Gogolev A.B., Artem'eva A.S., Rybakov E.G., Malek A.V. Colorectal cancer diagnostics via detection of tissue-specific extracellular nanovesicles. *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 32-56. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-32-56>

Адрес для переписки: Малек А.В., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, пос. Песочный-2, ул. Ленинградская, д.68, Санкт-Петербург, 197758, Россия; e-mail: [Anastasia@malek.com](mailto:Anastasia@malek.com)

Address for correspondence: Malek A.V., N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Pesochny-2, Leningradskaya str, 68, St.-Petersburg, 197758, Russia; e-mail: [Anastasia@malek.com](mailto:Anastasia@malek.com)

Дата поступления – 12.08.2020  
Received – 12.08.2020

После доработки – 08.09.2020  
Revised – 08.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020  
Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) занимает одну из лидирующих позиций в структуре онкологической смертности, что обосновывает актуальность разработки новых методов скрининга и ранней диагностики. Клинические рекомендации, отечественные [1] и зарубежные [2], на протяжении последних десятилетий сводятся к различным сочетаниям эндоскопических технологий и методов выявления скрытой крови в стуле, но оба подхода имеют ограничения.

Ведутся активные исследования по разработке методов анализа компонентов циркулирующей плазмы [3], хотя до практического применения пока не доведен ни один из вариантов технологии

т.н. «жидкостной биопсии». Одной из основных причин такой ситуации является отсутствие надежных молекулярных маркеров КРР. Идентификация и создание методов анализа мульти-молекулярных циркулирующих комплексов, например, внеклеточных нано-везикул (ВНВ), представляется решением проблемы. Циркулирующая плазма содержит порядка 1011-1012 ВНВ/мл. Это гетерогенная популяция мембранных везикул, секретруемых, преимущественно, клетками крови и эндотелия [4]. Минорная фракция этих везикул попадает в плазмоток из клеток различных тканей [5]. Фракция ткане-специфичных везикул отражает биохимический состав клеток соответствующих органов, и именно она может иметь диагностический потенциал. Если эта фракция существенна

по сравнению с тотальной популяцией циркулирующих везикул, ее количественные или качественные изменения могут влиять на количество или состав везикул плазмы. Так, например, повышение общей концентрации всех циркулирующих нано-везикул эндосомального происхождения (или экзосом) было описано у пациентов с КРР [6]. Несмотря на очевидно низкую диагностическую специфичность такого подхода, авторы исследования рекомендовали количественный анализ циркулирующих экзосом в качестве метода скрининга. С другой стороны, выявление в плазме специфической фракции ВНВ, содержащих КРР-ассоциированные РНК [7], микроРНК [8] или протеазы [9], может иметь более высокую диагностическую специфичность, чем просто подсчет везикул. Однако сложность выявления минорной фракции ВНВ с определенными биохимическими характеристиками в составе «фоновой» популяции всех везикул плазмы компрометирует диагностическую чувствительность и практическую значимость такого подхода.

Можно предполагать два принципиальных решения проблемы. Во-первых, применение ультравысокочувствительных технологий детекции везикулярных маркеров с помощью, например, электрокинетических чипов [10] или поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии [11]. Во-вторых, разработка методов концентрации (в идеале, специфического выделения) везикул, секретируемых клетками КРР. Простым примером такого подхода может служить метод анализа везикул из образца плазмы, полученного из вен брыжейки [12], но практическое применение такого метода кажется затруднительным. Концентрация отдельной фракции везикул из плазмы, полученной традиционным путем с помощью технологий иммуносорбции, представляется более перспективной, и она была уже реализована в рамках разработки методов диагностики плоскоклеточного рака головы и шеи [13] и меланомы [14].

В основе представленного исследования лежит предположение о том, что клетки кишечного эпителия секретируют специфический набор мембранных протеинов, и эти протеины могут секретироваться в составе мембраны ВНВ. При развитии КРР клетки средне- или высококодифференцированной опухоли сохраняют тканевую дифференцировку, их наружная мембрана и мембрана секретируемых ими ВНВ содержат ткане-специфичные маркеры. Эти маркеры могут быть использованы для выделения и анализа ткане-специфичных ВНВ, а повышение концентрации таких везикул в плазме может служить признаком развития КРР.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Биологический материал

Биологический материал был получен от доноров и пациентов, прошедших обследование или лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург) и ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва). Венозная кровь собиралась в вакутейнеры с ЭДТА, плазма отделялась в течение 10 минут после забора крови, замораживалась и хранилась при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Материал соскобов эпителия получали непосредственно после операций с участков неизмененной кишечной стенки.

### Клетки

В работе использовали клетки пяти стабильных линий НСТ-116, НТ-29, СОЛО-320, НuTu-80, SW837, полученных из коллекции клеточных культур Института Цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и смеси антибиотиков Пен-Стреп, 100 мкг/мл (все от ООО «Биолот», РФ) в стандартных условиях. Для экспериментов по проточной цитометрии и дот-блоттинга клетки выращивали до плотности не более 70%, снимали с субстрата смесью растворов трипсина (0,025%) и Версена (1:1), отмывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ) и разводили до концентрации  $1 \times 10^6$  кл/мл. Для выделения ВНВ клетки культивировались в стандартных условиях в среде, содержащей 10% телячьей сыворотки без ВНВ, кондиционированную клеточную среду накапливали в течение нескольких пассажей до объема 200 мл.

### Выделение нано-везикул

Для выделения ВНВ плазму (2 мл) размораживали до  $+4^{\circ}\text{C}$ , разводили 1:1 в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и последовательно центрифугировали  $300\text{g} - 10'$ ,  $2000\text{g} - 10'$  и  $10000\text{g} - 10'$  для осаждения клеточного детрита и крупных мембранных везикул. Экзосомы выделяли из супернатанта путем ультра-центрифугирования (Beckman Coulter: Optima XPN 80, ротор 70.1 Ti/k-фактор 36, ротор 45Ti/k-фактор 133) согласно классической процедуре [15] с незначительными модификациями. Раствор плазмы центрифугировали 110000g - 2 часа, удаляли супернатант, осадок растворяли в 100 мкл ФСБ. Для выделения экзосом, секретируемых клетками *in vitro*, культуральную среду также очищали от клеточного детрита и крупных мембранных везикул путем дифференциального центрифугирования, затем ультра-центрифугировали при 110 000g в течение ночи при  $+4^{\circ}\text{C}$ . Осадок,



содержащий экзосомы, разводили в 100 мкл ФСБ для последующего анализа.

### Дот-блоттинг

Для детекции общего содержания «маркерных» протеинов в биологических образцах (соскобах кишечного эпителия, клеточных культурах или ВНВ) материал лизировали с помощью буферного раствора RIPA (Thermo Scientific, США). При исследовании экспрессии протеинов в составе поверхностной мембраны использовали суспензии клеток или везикул в ФСБ. Общая концентрация белка в исследуемых образцах оценивалась методом Бредфорда и выравнивалась до 1 мкг/мкл. Образцы наносили на нитроцеллюлозную мембрану (каждый «дот» - 0,5 мкл) с размером пор 0,45 мкм (BioRad Laboratories, США), блокировали (Трис-буферный солевой раствор (ТБС), 0,05% Tween-20, 5% альбумин бычьей сыворотки (все от Sigma, США)) в течение 1 часа. Первичные антитела (указаны в таблице 1) использовали в концентрациях, рекомендованных производителем. Инкубация проводилась в течение 30 мин., затем мембрану «отмывали» раствором ТБС с 0,05% Tween-20 трижды по 5 минут и инкубировали с вторичными антителами, меченными пероксидазой хрена (Ab6721, Ab6789) в разведении 1:20 000 в течение 30 минут. После трехкратной «отмывки» мембраны детекция пероксидазной активности проводилась путем хемилюминесцентной реакции с использованием Pierce ECL Western Blotting Substrate (Thermo Scientific, США) и системы визуализации Invitrogeni Bright FL1500 Imaging System

(Thermo Fisher, США). Полученные данные обрабатывались в программе Image J, США.

### Анализ траекторий наночастиц (АТН)

Измерения проводились на анализаторе Nanosight NS300 («Malvern», США). Каждый образец изучался в 4-5 разных микрообъемах путём прокачки образца через камеру. Длительность каждого измерения – 60 секунд. Уровень камеры: 14, ползунок затвора: 1259, усиление ползунка: 366, пороговый уровень: для осадка – 5, для ВФ2 – 6. Анализ экспериментальных данных проводился с помощью Nanosight NTA 3.2 Software.

### Атомно-силовая микроскопия (АСМ)

Использовалась для изучения формы и распределения частиц по размерам. Измерения проводились с использованием сканирующего зондового микроскопа NT-MDT SolverBio («NT-MDT», Россия). Режим - полуконтактный, зонд - NSG01\_DLC («NT-MDT», Россия). Образцы наносили на поверхность слюды («2SPI», США) непосредственно после снятия верхнего слоя. Затем проводилась инкубация в течение 30 секунд с последующей двойной отмывкой дистиллированной водой. Далее проводилась сушка сжатым воздухом. Обработку и анализ изображений проводили в программах Gwyddion (gwyddion.net) и Image Analysis («NT-MDT», Россия).

### Проточная цитометрия (ПЦ) для анализа клеток

Суспензию клеток ( $1 \times 10^6$  кл/мл) в ФСБ аликвотировали по 100 мкл, осаждали центрифугированием при 1000g, супернатант удаляли, добавляли 100 мкл

**Таблица 1.** Список потенциальных маркеров ВНВ, секретируемых клетками КРК

**Table 1.** The list of potential markers of EVs secreted by the cells of CRC

Gene Symbol	Uni Prot ID	Exo Carta ID	Название протеина	Клеточная функция	Антитела
EPCAM	P16422	4072	Epithelial Cell Adhesion Molecule	Physical homophilic interaction molecule	ab20160
CD47	Q08722	282661	CD47 molecule	Cell adhesion	ab108415
CD63	P08962	967	TSPAN30	Lysosomal-Associated Membrane Protein	ab59479
VAMP1	P23763	6843	Vesicle Associated Membrane Protein 1	Endoplasmic reticulum unfolded protein response	ab151712
CEACAM5	P06731	1048	CEA-related cell adhesion molecule 5	Cell surface glycoprotein	ab190718
CD177	Q8N6Q3	(RAT)	CD177 molecule	Formation of with beta-2 integrin heterodimer	ab203025
CDH17	Q12864	1015	Cadherin 17	Cadherins are calcium-dependent cell adhesion proteins	ab109220
CDHR5	Q9HBB8	53841	Cadherin-related family member 5	Intermicrovillar adhesion molecule	ab189111
CLRN3	Q8NCR9	119467	Clarin 3	Integral component of membrane	ab177695
DHRS11	DHRS11	(RAT)	Dehydrogenase/reductase member 11	Steroid metabolism	ab98276
GCNT3	O95395	9245	Glucosaminyl (N-acetyl) transferase 3	Synthesis of mucin beta 6 N-acetylglucosaminides	ab98134
GPA33	Q99795	10223	Cellsurface A33 antigen	Cell-cell recognition and signaling	ab108938
LGALS4	P56470	3960	Lectin, galactoside-binding, soluble, 4	Assembly of adherens junctions	ab170638
MEP1A	Q16819	4224	Mepripin A, alpha	Hydrolysis of protein and peptide substrates	ab107548
PIGY	Q3MUY2	84992	GPI-GlcNAc transferase	Modification of cell surface proteins	ab79453
REG4	Q9BYZ8	83998	Regenerating family member 4	Calcium-independentlectin	ab200723

FACS-блокирующего буфера (1% БСА, растворённого в ФСБ), инкубировали 30 мин. на льду, затем вновь осаждали и удаляли супернатант. В случае анализа содержания «маркерных» протеинов в составе цитоплазмы клетки обрабатывали с помощью набора BD Cytofix/CytoPerm Kit (Becton Dickinson and Company, США). Клетки инкубировали с первичными антителами (Табл.1) в разведении 1:200 в течение 30' при +4°C. После трехкратной «отмывки» в ФСБ, клетки инкубировали со вторичными антителами, меченными FITC в разведении 1:1000 в течение 30' при +4°C, и трижды отмывали ФСБ. Приготовленные таким образом клетки ресуспендировали в 200 мкл ФСБ и анализировали.

### **Проточная цитометрия (ПЦ) для анализа тотальной популяции ВНВ**

Пробоподготовка образцов осуществлялась с помощью коммерческого набора Echo-FACS (Hansa BioMed, Эстония) согласно протоколу производителя и предполагала неспецифическую фиксацию ВНВ к латексным микросферам. Детекция «экзосомальных» маркеров CD63 и CD9 была проведена с помощью антител, конъюгированных с флуоресцентными метками FITC (CD63-FITC, Ab18235, Abcam, США) PE (CD9-PE, 312105, Bio Legends, США). Выявление ткане-специфичных протеинов проводилась с помощью первичных антител к соответствующим белкам (Табл.1) и вторичных флуоресцентно меченных антител (Ab6717, Ab6785 Abcam, США).

### **Создание иммуно-частиц и проточная цитометрия (ПЦ) для анализа ВНВ, выделенных методом иммуносорбции**

Для проведения этого исследования были изготовлены иммуно-частицы, связывающие везикулы, на поверхности которых представлены «маркерные» протеины (Mepin alpha, CLRN3, GAL4) – рисунок 6. Соответствующие антитела (Табл.1) очистили от консерванта (азид натрия), сконцентрировали с помощью набора ультрафильтров Amicon Ultra-0.5 mL Centrifugal Filters for DNA and Protein Purification and Concentration (Millipore, Ирландия) и конъюгировали с биотином с помощью набора Pierce Antibody Biotinylation Kit for IP (Thermo Scientific, США). Эффективность реакции связывания биотина оценивали набором для количественного определения биотина Pierce Biotin Quantitation Kit (Thermo Scientific, США). Биотинилированные антитела (10 мкл) инкубировали с суперпарамагнитными частицами, СПМЧ (1 мкл), поверхность которых модифицирована стрептавидином (ООО «Силекс», Москва) в течение часа при +4 °С. В результате образования связи биотин-стрептавидин в ходе этой инкубации образовались комплексы СПМЧ-АТ, или иммуно-

частицы (Рис.6А), физические характеристики которых определяют возможность их анализа методом проточной цитометрии.

Приготовленные таким образом иммуно-частицы инкубировали с ВНВ, выделенным с помощью ультра-центрифугирования, в объеме 100 мкл в течение ночи при +4°C (Рис.6Б). Полученный комплекс «СПМЧ-АТ-ВНВ» (Рис.6В) отмывали 3 раза ФСБ на магнитном штативе, блокировали в 200 мкл 0,2% буфера Tropix i-Block (Thermo Fisher, США) в течение 1 часа при +4°C, дважды промывали ФСБ 2 раза. Для количественной оценки связанных ВНВ, комплексы инкубировали с антителами к классическому «экзосомальному» маркеру CD63 (CD63-FITC, Ab18235, Abcam, США) в течение 2 часов при +4°C в темноте. Полученные комплексы промывали 2 раза, разводили в 200 ФСБ и анализировали. В качестве отрицательного контроля использовали комплекс СПМЧ-АТ без экзосом, «проведенный» через аналогичные процедуры блокировки, мечения антителами CD63-FITC и отмывки.

Все исследования были проведены на проточном цитометре Cytotflex (Beckman Coulter, США), оборудованном аргоновым лазером с длиной волны 488 нм для измерения прямого рассеяния света (FSC) и бокового рассеяния (SSC). Анализ результатов был проведен с помощью программного обеспечения CytExpert (Beckman Coulter, США) и Excel (Microsoft).

### **Финансирование и этическое обоснование**

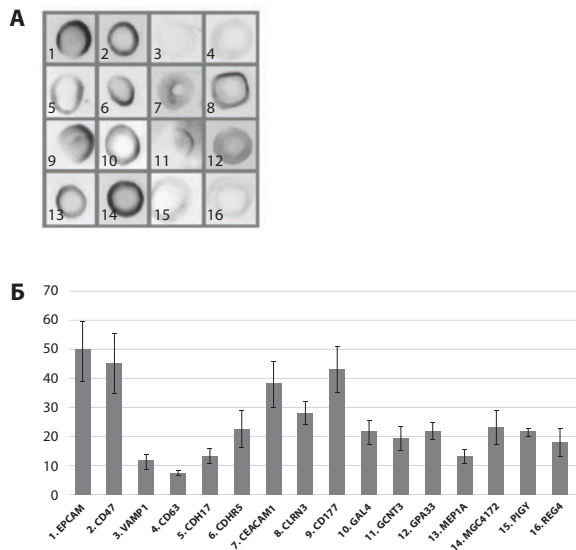
План исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург), работы проводились в рамках НИР АААА-А18-118012390156-5 в сотрудничестве с ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России (Москва). Все пациенты подписали информированное согласие относительно участия в исследовании. Биологический материал включался в работу после деперсонализации клинических данных.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ**

### **Выбор потенциальных маркеров**

С целью идентификации потенциальных экзосомальных маркеров КРК был проведен анализ доступных баз данных (Human Protein Atlas [16], Uni Prot [17]). Были отобраны 12 молекул, для которых характерна экспрессия (исключительно или преимущественно) в клетках кишечного эпителия, мембранная внутриклеточная локализация и отсутствие секретируемых (циркулирующих) форм. Так, результаты проведенного анализа сведены в таблицу 1. Все выбранные молекулы (кроме CDH177 и DHRS11) были ранее детектирова-

ны в составе ВНВ, секретируемых клетками человека, что отражено в базе данных Exo Carta [18]. CDH177 и DHRS11 были пока обнаружены в ВНВ, секретируемых клетками крысиных линий, что указывает на возможность их наличия в составе везикул, секретируемых клетками кишечного эпителия человека.



**Рисунок 1.** Анализ экспрессии потенциальных маркеров в соскобах эпителия толстой кишки, метод дот-блот. А. - Репрезентативный пример анализа 16 молекул в одном образце. Б. - Результаты, усредненные для 5 образцов.

**Figure 1.** Analysis of the expression of potential markers in large intestine epithelial scrapings dot-blotting method. А. - Representative example of analysis of 16 molecules in one sample. Б. - Results averaged for 5 samples

С целью позитивного контроля системы детекции в анализ были включены два белка (ЕрСАМ и CD47), активная экспрессия которых характерна для всех эпителиальных клеток. В качестве позитивного контроля детекции везикулярных маркеров был использован «классический» экзосомальный маркер CD63 и VAMP1 – молекула, определяемая в составе мембраны различных типов везикул, не только экзосом. Кроме информации о ткане-специфичном характере экспрессии и внутриклеточной локализации, при выборе потенциальных маркеров учитывались данные о функции белка, которая предполагала возможность его «появления» в составе мембраны ВНВ.

#### Оценка экспрессии выбранных молекул в эпителии толстой кишки

С целью верификации факта экспрессии выбранных протеинов были собраны образцы (n=5) соскоба эпителия с участков нормальной кишечной стенки после гемиколэктомии. Белковые лизаты были нор-

мализованы по содержанию общего белка методом Бредфорда, по 2 мкл лизата было нанесено на нитроцеллюлозную мембрану и относительное содержание каждого из 16 выбранных молекул (включая 4 контроля) было проанализировано с помощью дот-блоттинга. На рисунке 1А представлен репрезентативный пример результатов анализа одного образца. Данные по всем образцам были оцифрованы, нормализованы относительно среднего значения интенсивности сигнала. Значения, средние для пяти образцов, представлены на рисунке 1Б. Представленные результаты подтверждают высокий уровень белков ЕрСам и CD47, экспрессия которых ожидаема в клетках всех типов эпителиев. Был детектирован низкий уровень экспрессии везикулярных маркеров (VAMP1 и CD63). Экспрессия остальных молекул определялась отчетливо, с различной степенью интенсивности. Относительно высокий уровень экспрессии наблюдался у CEACAM1 и CD177, низкий – у CHD17 и MER1A (Merpin A). Полученные результаты подтвердили факт экспрессии выбранных протеинов в эпителии толстой кишки и обосновали предположение о возможности их наличия в составе ВНВ, секретируемых клетками нормального кишечного эпителия и трансформированного эпителия, сохранившего тканевую дифференцировку.

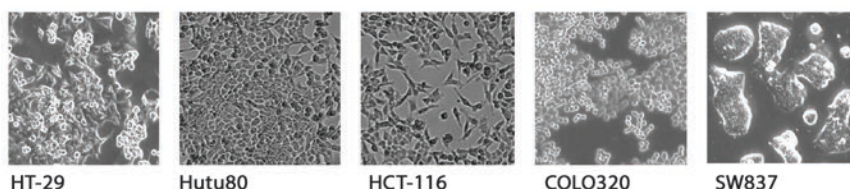
#### Оценка экспрессии выбранных молекул в клетках колоректальной карциномы in vitro

Задачей следующего этапа исследования был анализ экспрессии выбранных протеинов клетками кишечного эпителия с целью последующей оценки их секреции в составе ВНВ в условиях in vitro. Такой подход обеспечил возможность работы с «чистой» популяцией ВНВ, секретируемых клетками кишечного эпителия. Были выбраны пять стабильных линий, полученных из материала аденокарцином различных отделов ЖКТ (Табл.2). Используемые линии имели различные генетические характеристики и морфологию (Рис.2). Все линии являлись дериватами высокоили умереннодифференцированных аденокарцином кишечника и сохранили способность формировать ксенографтные опухоли аналогичной морфологии [19]. Этот факт позволял предполагать, что в клетках этих линий сохранилась экспрессия тканеспецифичных протеинов, и эти протеины могут быть обнаружены в секретируемых клетками ВНВ. Перед началом трудоемкого этапа выделения и анализа ВНВ мы оценили относительный уровень экспрессии потенциальных маркеров клетками КРР.

Для повышения степени достоверности результатов мы использовали две технологии: дот-блоттинга и проточной цитометрии. Оба метода позволяют оценивать общее содержания протеинов в составе клеток и отдельно анализировать их содержа-

**Таблица 2.** Клеточные линии  
**Table 2.** Cell lines

Клеточная линия	Первичная опухоль		Особенности ксенографтной опухоли в модели <i>in vivo</i>
	Локализация	Гистологическая форма	
HT-29	Ободочная кишка	Аденокарцинома, G-II	Высокодифференцированная аденокарцинома (G-I)
HuTu89	12-перстная кишка	Аденокарцинома, G-III	Высокодифференцированная аденокарцинома (G-I)
HCT-116	Ободочная кишка	Аденокарцинома, G-III	Умеренно дифференцированная опухоль (G-II), отдаленные метастазы
COLO320	Ободочная кишка	Аденокарцинома, G-II	Высокодифференцированная аденокарцинома (G-I)
SW837	Прямая кишка	Аденокарцинома, G-IV	Высокодифференцированная аденокарцинома (G-III)



**Рисунок 2.** Морфология использованных клеточных линий  
**Figure 2.** Morphology of the cell lines used

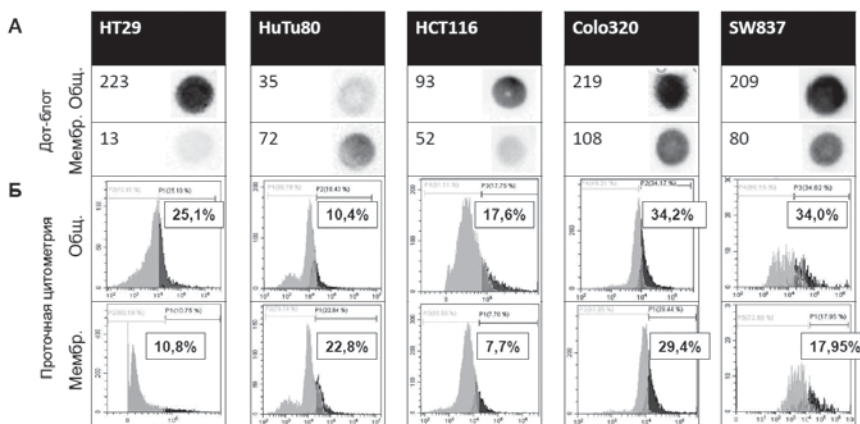
ние в составе поверхностной клеточной мембраны. Предполагалось, что обнаружение «потенциальных маркеров» в составе клеточной мембраны повышало шансы «присутствия» этих белков в составе мембраны секретируемых клетками ВНВ. Так тотальная (общ.) и мембранная (мембр.) экспрессия каждого из 16 «потенциальных» маркеров была оценена в клетках пяти линий двумя технологиями. Результаты, полученные методом дот-блоттинга, представлены в таблице 3 (столбцы «клетки»: М (мембранная) и Об. (общая), репрезентативный пример данных, полученных для одного протеина методами дот-блоттинга и проточной цитометрии (GAL4), представлен на рисунке 3. На этом примере видно, что оба метода показывают сходные соотношения тотальной и мембранной фракции протеина GAL4 в клетках разных линий. Например, в клетках HT29 этот протеин содержится, преимущественно, в цитоплазме, а в клетках HuTu80 – в составе поверхностной мембраны. Так, соотношения, определенные с помощью дот-блоттинга, подтвердились результатами проточной цитометрии и для других клеточных линий. Поэтому методика дот-блоттинга была выбрана для последующих исследований ВНВ как более простая и надежная.

#### **Выделение и анализ ВНВ, секретируемых клетками *in vitro***

Перед исследованием экспрессии «потенциальных» маркеров КРК в составе секретируемых клетками ВНВ, везикулы были выделены из культуральной

среды и исследованы в соответствии с рекомендациями ISEV [20]. Размер и концентрация выделенных нано-частиц была оценена с помощью анализа траекторий нано-частиц – АТН (nanoparticles tracking analysis, NTA). После пересчета полученных данных с учетом исходного объема среды концентрация нано-частиц колебалась в пределах  $2\cdot 10^{10}$ /мл. Размер мажорной фракции нано-частиц оценивался в диапазоне 80–110 нм. Репрезентативный пример результатов измерения представлен на рисунке 4А. Оценка морфологии и степени гетерогенности выделенных нано-частиц была проведена с помощью атомно-силовой сканирующей микроскопии АСМ (atomic force microscopy, AFM). Пример полученного изображения представлен на рисунке 4Б (верхняя панель). Размеры частиц были оцифрованы, распределение частиц по размерам представлено на гистограмме (Рис.4, нижняя панель). Согласно полученным данным, выделенные частицы представлены относительно гомогенной популяцией, с мономодальным распределением по размеру (размер мажорной фракции 60–80 нм). Разница в результатах оценки размера частиц определяется особенностями методов анализа: в случае АТН производится расчет гидродинамического радиуса частиц в суспензии, а АСМ оценивает размер частиц, фиксированных к поверхности слюды, отмытых и высушенных. В целом, полученные результаты оценки физических характеристик, выделенных из культуральной среды частиц, позволяют предполагать их везикулярную





**Рисунок 3.** Результаты анализа уровня экспрессии молекулы GAL3 клетками пяти линий.

**А.** Анализ, проведенный методом дот-блот, при использовании клеточного лизата (верхний ряд «Общ.» – общее содержание белка GAL3 в клетках) и при использовании неизмененных клеток (нижний ряд «Мембр.» – содержание белка GAL4 в составе поверхностной мембраны).

**Figure 3.** Results of analysis of the level of GAL3 molecule expression by cells of five lines

**А.** Dot-blotting analysis using cell lysate (upper row of “Total” – total GAL3 protein content in cells) and using unchanged cells (lower row of “Membrane” – GAL4 protein content in the surface membrane)

**Б.** Analysis performed using flow cytometry, after the cell membrane permobilization procedure (upper row of “Total” – the total content of GAL3 protein in cells) and when using cells with an unchanged membrane (lower row of “Membrane” – the content of GAL4 protein in the surface membrane)

природу. Для оценки наличия на поверхности частиц классических «экзосомальных» маркеров частицы были фиксированы к латексным микросферам инкубированы с антителами к тетраспанинам CD63 и CD9. Методом проточной цитометрии показано, что на микро-сферах (98,5%) детектируется флуоресцентный сигнал по двум каналам (FITC-CD63, PE-CD9), т.е. в мембране фиксированных к микро-сферам частиц присутствуют оба маркера (Рис.3В). Таким образом, выделенные из среды частицы представлены, как минимум, частично ВНВ эндосомального происхождения или экзосомами.

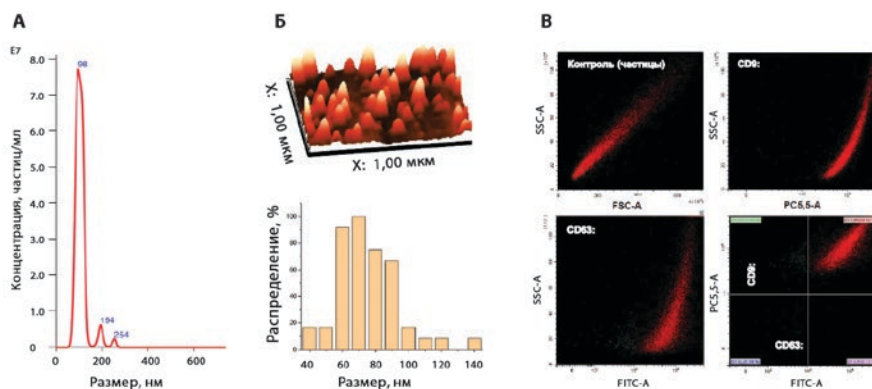
#### Анализ экспрессии выбранных молекул в составе ВНВ секретируемых клетками КРК

Количественный анализ «потенциальных» маркеров в составе ВНВ был проведен методом дот-блоттинга по аналогии с исследованием клеток двумя способами: путем нанесения на мембрану интактных или лизированных ВНВ. Первый метод позволяет исследовать преимущественно состав поверхностной мембраны, а второй – общий состав везикулярных белков. Пример результатов, полученных при анализе протеина GAL4 в составе везикул из всех пяти клеточных линий представлен на рисунке 5. В таблице 3 (столбцы «ВНВ») представлены результаты по остальным протеинам. С целью оценки факта концентрации исследуемых протеинов в ВНВ, содержание этих молекул в везикулах было выра-

жено в % от содержания в клетках. Значения этого параметра, усредненные для пяти клеточных линий, представлены в таблице (столбец «ВНВ/Кл, %»). Концентрация семи (CLRN3, CD177, GAL4, GCNT3, Merpin A, MGC4172, PIGY) из 14 протеинов, исключая контроли (VAMP1, CD63), в ВНВ оказалась выше в составе лизированных ВНВ, чем в клеточном лизате. Это наблюдение подтверждает гипотезу о возможной специфической секреции (концентрации) этих протеинов в составе везикул. Так как в качестве диагностических маркеров могут быть использованы молекулы в составе поверхностной мембраны везикул, мы провели сравнительную оценку содержания исследуемых протеинов в составе поверхностных мембран ВНВ и в составе лизированных везикул. Это соотношение также было выражено в %, средние значения для ВНВ из пяти клеточных линий представлены в таблице 3 (столбец «М/Об, %»). Так, ожидаемо, классический «экзосомальный» маркер тетраспанин CD63 представлен преимущественно в составе везикулярной мембраны (179%). Из исследуемых протеинов, в основном, мембранная локализация была определена у CEACAM6, CLRN3, GAL4 и Merpin A.

Полученные результаты показали, что клетки КРК секретируют протеины CLRN3, GAL4 и Merpin A в составе ВНВ, причем эти протеины локализованы преимущественно в везикулярной мембране. Эти данные позволяли предполагать, что развитие КРК





**Рисунок 4.** Анализ ВНВ, выделенных из культуральной среды (HT-29).

А. Оценка размера и концентрации ВНВ с помощью технологии анализа траекторий наночастиц (nanoparticle tracking analysis, NTA).

Б. Оценка степени гомогенности популяции выделенных ВНВ с помощью атомно-силовой микроскопии (atomic force microscope, AFM). Сверху – изображение фрагмента подложки с фиксированными на ней везикулами. Снизу – гистограмма распределения везикул по размеру.

В. Анализ экспрессии «экзосомальных» маркеров CD63 и CD9 на мембране везикул с помощью набора Exo FACS (Hansa BioMed, Эстония). Везикулы выделены ультра-центрифугированием и неспецифично фиксированы к латексным микро-сферам. После инкубации с флуоресцентно мечеными антителами (CD9 или CD63), проведен анализ по интенсивности флуоресценции по соответствующим каналам (FITC, PC5,5). Нижний правый квадрант – результат совмещения данных по двум каналам: 98,5% частиц с фиксированными ВНВ связывают оба антитела, т.е. практически все везикулы – позитивны по двум «экзосомальным» маркерам.

**Figure 4.** Analysis of EVs isolated from the cultural medium (HT-29)

A. Evaluation of the size and concentration of EVs using nanoparticle tracking analysis (NTA)

B. Evaluation of the degree of homogeneity of the population of isolated EVs using atomic force microscopy (AFM). Above is an image of a fragment of the substrate with vesicles fixed on it. Below is a histogram of the vesicle size distribution.

C. Analysis of the expression of “exosomal” markers CD63 and CD9 on the vesicle membrane using the Exo FACS kit (Hansa BioMed, Estonia). Vesicles were isolated by ultra-centrifugation and non-specifically fixed to latex micro-spheres. After incubation with fluorescently labeled antibodies (CD9 or CD63), an analysis of the fluorescence intensity was performed for the corresponding channels (FITC, PC5.5). The lower right square is the result of combining data on two channels: 98.5% of particles with fixed EVs bind both antibodies, i.e. almost all vesicles are positive for two “exosomal” markers

может сопровождаться появлением (повышением концентрации) в плазме специфичных везикул, обогащенных CLRN3, GAL4 и/или Merpn A. Мембранная локализация этих маркеров определяла возможность разработки метода их выделения путем иммуносорбции и детекции с помощью проточной цитометрии.

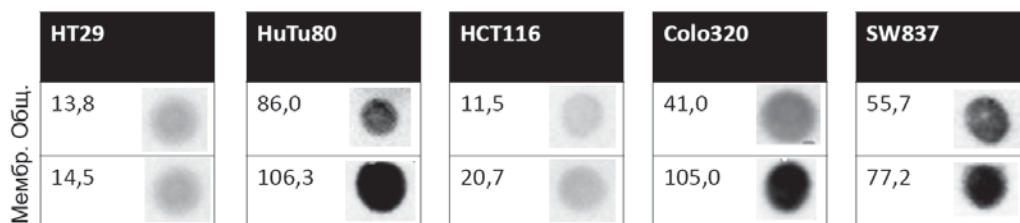
#### Создание метода иммуносорбции КРК-экзосом и количественный анализ ткане-специфичных ВНВ в плазме.

Количественный анализ (или, как минимум, детекция) ткане-специфичных ВНВ может быть основана на технологии их специфического выделения. Для решения этой задачи мы создали иммуночастицы, состоящие из суперпарамагнитных микросфер (1 мкм), поверхность которых «декорирована» антителами к «потенциальным» маркерам: CLRN3, GAL4 и/или Merpn A. Взаимодействие частиц с антителами осуществлялось за счет высоко-аффинной связи биотин-стрептавидин (Рис.6А). При инкубации

таких иммуно-частиц с ВНВ, выделенными из плазмы, происходит селективная фиксация везикул, мембрана которых содержит маркерный протеин (Рис.6Б). Затем «фиксированные» везикулы метятся антителами к любому из «классических» экзосомальных маркеров (в нашем случае CD63), и количественная оценка «фиксированных» везикул проводится методом проточной цитометрии (Рис.6В).

Созданная технология была сначала протестирована для исключения ложноположительных результатов из-за неспецифического взаимодействия антител. Затем мы проанализировали десять образцов плазмы от пяти пациентов с верифицированным диагнозом КРК и пяти доноров. Пример результата количественной оценки Merpn A (+) ВНВ в шести образцах плазмы (3 пациента с КРК и 3 донора) представлен на рисунке 7. Так, в плазме пациентов отчетливо детектируется повышенное содержание везикул, мембрана которых содержит ткане-специфичный маркер Merpn A.

Усредненные результаты анализа трех маркеров,



**Рисунок 5.** Результаты анализа концентрации GAL3 в ВНВ, секретируемых клетками КРР.

Анализ проведен методом дот-блот, при использовании лизата ВНВ (верхний ряд «Общ.» – общее содержание белка GAL3 в везикулах) и при использовании неизмененных ВНВ (нижний ряд «Мембр.» – содержание белка GAL4 в составе везикулярной мембраны)

**Figure 5.** Results of analysis of the AL3 concentration in EVs secreted by CRC cells.

The analysis was carried out by dot-blotting method, when using the EVs lysate (the upper row of “Total” – the total GAL3 protein content in vesicles) and when using unchanged EVs (the lower row of “Membranes” – the GAL4 protein content in the vesicular membrane)

**Таблица 3.** Результаты дот-блот анализа экспрессии «потенциальных» ткане-специфичных маркеров в клетках линий КРР и внеклеточных везикулах, секретируемых этими клетками *in vitro*. Исследованы лизаты клеток и везикул, отражающие общее содержание протеинов (столбцы «Об»), и суспензии интактных клеток и везикул, отражающие уровень экспрессии протеинов в составе поверхностной мембраны (столбцы «М»)

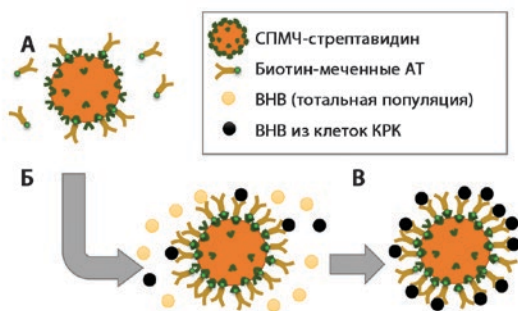
**Table 3.** Results of dot-blotting analysis of the expression of “potential” tissue-specific markers in cells of CRC lines and extracellular vesicles secreted by these cells *in vitro*. Lysates of cells and vesicles reflecting the total protein content (columns “T”) and suspensions of intact cells and vesicles reflecting the level of protein expression in the surface membrane (columns “M”)

Линии клеток	HT29				HuTu80				HCT116				Colo320				SW837				ВНВ/ Кл, %	М/ Об, %
	клетки		ВНВ		клетки		ВНВ		клетки		ВНВ		клетки		ВНВ		клетки		ВНВ			
Клет. фракция	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об	М	Об		
1 ЕрСАМ	15	99	122	80	100	88	45	25	533	85	131	76	2	24	43	51	301	114	67	70	94,2	136,4
2 CD47	151	159	75	85	30	128	50	81	150	178	43	132	108	107	57	40	111	98	72	105	67,1	78,5
3 VAMP1	42	107	160	151	110	91	185	188	119	90	89	70	111	132	211	208	106	102	150	134	142,9	109,0
4 CD63	160	23	192	92	69	49	110	69	180	153	277	151	163	109	217	130	47	105	231	129	175,5	179,1
5 CDH17	20	85	83	71	305	243	18	219	149	57	107	61	361	67	103	96	325	66	83	73	94,6	104,4
6 CDHR5	199	51	54	87	2	111	30	16	44	100	69	133	115	76	35	100	63	103	54	44	89,4	93,0
7 SEACAM6	37	28	52	38	77	114	58	63	45	104	35	90	56	79	58	49	197	74	36	25	72,4	106,6
8 CLRN3	90	197	320	260	276	95	145	122	87	111	91	48	36	105	238	212	51	99	156	149	131,2	129,5
9 CD177	113	67	121	143	96	63	75	47	65	89	90	66	226	96	57	128	106	99	12	30	104,8	93,3
10 GAL4	13	223	56	104	72	35	272	166	52	93	109	43	108	219	116	87	80	209	213	188	174,6	143,0
11 GCNT3	127	81	67	154	20	113	72	81	78	73	63	91	83	95	75	34	57	58	79	132	110,9	96,2
12 GPA33	188	99	56	40	89	59	32	66	49	103	82	49	79	122	20	36	69	86	80	112	71,9	97,1
13 Mepri n A	7	79	102	55	93	69	129	88	22	62	156	136	15	128	138	136	48	124	160	177	133,5	128,2
14 MGC4172	135	66	61	77	184	82	157	113	13	106	85	106	31	83	92	136	0	78	82	103	121,9	89,3
15 PIGY	186	53	4	50	48	152	72	135	15	89	69	212	59	101	79	96	39	87	60	65	117,9	53,7
16 REG4	116	184	73	115	29	109	150	122	15	109	110	136	36	66	59	60	1	112	66	66	89,8	93,5

выбранных в ходе предварительных этапов работы, и эпителиального «маркера» ЕрСАМ в десяти образцах представлены в Таблице 4.

Концентрация ВНВ, мембрана которых содержит ткане-специфические маркеры (CLRN3, GAL4, Mepri n A), статистически значимо повышена в

плазме пациентов. Полученные результаты подтверждают гипотезу о возможной диагностической значимости ткане-специфических везикулярных маркеров. Использованная стратегия отбора и валидации «потенциальных» маркеров может быть использована в дальнейших исследованиях.



**Рисунок 6.** Схема создания и использования иммуно-частиц для выделения специфической фракции ВНВ.

**А.** Фиксация антител (АТ) к супер-парамагнитным частицам (СПМЧ) через взаимодействие биотина на АТ и стрептавидина на СПМЧ.

**Б.** Инкубация иммуно-частиц (комплексов СПМЧ-АТ) с ВНВ плазмы и взаимодействие иммуно-частиц с фракцией специфических везикул.

**В.** Отделение комплекса СПМЧ-АТ-ВНВ, содержащего специфические ВНВ от везикул плазмы. Полученные комплексы могут быть использованы для последующего анализа фракции ВНВ.

**Figure 6.** Scheme of creation and use of immuno-particles for isolation of a specific fraction of EVs

**A.** Fixation of antibodies (AB) to superparamagnetic particles (SPMP) through the interaction of biotin with AB and streptavidin with SPMP

**B.** Incubation of immuno-particles (SPMP- AB complexes) with EVs plasma and interaction of immune-particles with a fraction of specific vesicles.

**B.** Separation of the SPMP-AB-EVs complex containing specific EVs from plasma vesicles. The resulting complexes can be used for subsequent analysis of the EVs fraction

## ОБСУЖДЕНИЕ

Признано, что секретируемые клетками КРР внеклеточные нано-везикулы играют существенную роль в развитии заболевания [21]. ВНВ участвуют в процессе инвазивного роста первичной опухоли путем модификации структуры стромы, изменения морфологии фибробластов, стимуляции патологической васкуляризации. Большой практический интерес

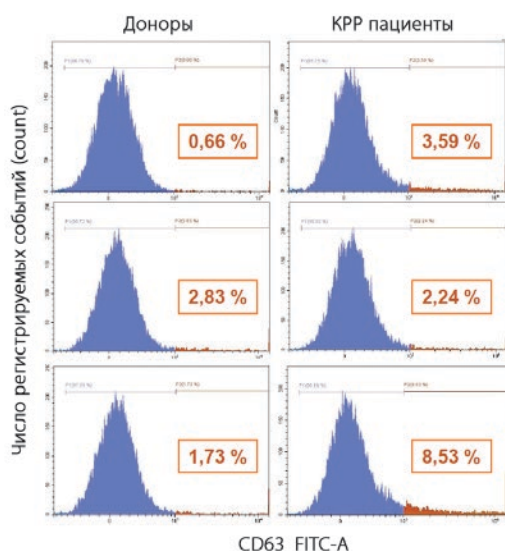
привлекают исследования системных эффектов ВНВ, секретируемых клетками опухоли. Так, например, было показано в экспериментальных работах, что эффективность метастатической диссеминации клеток КРР по системе брыжеечных сосудов в печень регулируется ВНВ. Среди возможных механизмов такой регуляции описан эффект стимуляции дифференцировки моноцитов [22] и клеток, экспрессирующих рецептор к CXCR4 [23]. Так, на фоне множества исследований, описывающих биологические эффекты ВНВ, секретируемых клетками КРР, пока не удалось выделить их из плазмы и сопоставить структурные и функциональные особенности. Пока неизвестны специфические биохимические характеристики, которые позволяли бы физически выделить эту фракцию ВНВ из общего состава везикул плазмы и выяснить молекулярные механизмы наблюдаемых патологических эффектов. Такая ситуация снижает практическую ценность результатов многих экспериментальных исследований.

Кроме того, разработка диагностических технологий на основе анализа ВНВ плазмы представляется мало-перспективным направлением, если принять во внимание тот факт, что диагностическую ценность имеет лишь минорная фракция анализируемых везикул. Ранее мы провели исследование с целью оценки диагностического потенциала экзосомальных микроРНК [24]. В рамках этой работы «определение» фракции везикул, секретируемых клетками КРР, было проведено путем сравнения плазмы пациентов до и после удаления опухоли. Такой подход был основан на предположении, что после удаления опухоли фракция везикул, секретируемых клетками этой опухоли, в плазме уменьшится. Соответственно, отличия профиля везикулярных микроРНК в материале, полученном до и после операции, должны отражать состав везикул именно опухолевого происхождения. Такой подход, дополненный этапом валидации результатов, позволил идентифицировать две молекулы, miR-223 и miR-181a, сочетанный анализ которых имел высокий диагностический потенциал. Но эти результаты не решили проблемы «идентификации» диагностически значимой фракции ВНВ. Оставалась очевидной задача физического выделения везикул, секретиру-

**Таблица 4.** Результаты анализа ткане-специфичных ВНВ в плазме пациентов с КРК и здоровых доноров с помощью иммуно-частиц методом проточной цитометрии. Представлены усредненные данные по 5 образцам. Статистическая значимость разницы между группой пациентов и доноров оценена с помощью теста Манн-Уитни.

**Table 2.** Results of analysis of tissue-specific EVs in plasma of patients with CRC and healthy donors using immuno-particles by flow cytometry. The average data for 5 samples is presented. The significance of the difference between the group of patients and donors was assessed using the Mann-Whitney test

Маркеры ВНВ	CLRN3	GAL4	Meprin A	EpCAM
КРК (пациенты), n=5	1,7	2,5	4,8	6,2
Контроль (доноры), n=5	0,3	0,9	1,7	11,6
Стат. Значимость	**	*	**	NS



**Рисунок 7.** Репрезентативные результаты количественной оценки Meprin A-позитивных ВНВ в составе тотальной популяции везикул плазмы здоровых доноров и пациентов с КРП.

Везикулы выделены с помощью иммуно-частиц, несущих антитела к Meprin A. После инкубации с везикулами плазмы и отмывки, связавшиеся % Meprin A (+) ВНВ помечены антителами к «экзосомальному» маркеру CD63-FITC. Выделены значения: % Meprin A (+) ВНВ.

**Figure 7.** Representative results of quantitative evaluation of Meprin A-positive EVs in the total population of plasma vesicles of healthy donors and patients with CRC.

Vesicles were isolated using immuno-particles carrying antibodies to Meprin A. After incubation with plasma vesicles and washing, % Meprin A (+) bound EVs were labeled with antibodies to the "exosomal" marker CD63-FITC. Highlighted values are: % Meprin A (+) EVs

емых клетками КРП, что позволило бы расширить панель маркерных микроРНК и повысить надежность метода в целом.

Для решения этой задачи мы предположили, что везикулы, секретируемые клетками высоко- или средне- дифференцированной аденокарциномы, могут иметь в составе мембраны ткане-специфичные протеины. Для подтверждения этой гипотезы были выбраны 12 молекул – кандидатов, отвечающих ряду критериев: исключительная или преимущественная экспрессия в клетках кишечного эпителия, мембранная локализация и доказанная экспрессия в составе ВНВ. После анализа биопсийного материала из нормального эпителия толстой кишки, клеточных линий, полученных из кишечных аденокарцином и везикул, секретируемых этими клетками в условиях *in vitro*, лист кандидатов сузился до 3 молекул: CLRN3, GAL4, Meprin A. Количественная оценка ВНВ, имеющих один из этих маркеров, в составе плаз-

мы пациентов с КРП и здоровых доноров показал обоснованность нашего предположения. Похожее исследование было недавно проведено группой корейских исследователей [25]. Эта работа решала аналогичную задачу, но имела иной дизайн: анализ протеинов в составе ВНВ, секретируемых клетками двух линий (HT29 и HCT-116), был проведен методом масс-спектрометрии, затем из списка идентифицированных молекул были выбраны молекулы – кандидаты, соответствующие критериям, использованным в нашей работе. В заключении было проведено сравнение концентрации выбранных молекул в составе ВНВ пациентов с КРП и здоровых доноров. Итогом исследования была идентификация нового везикулярного маркера КРП – тетраспаина TSPAN1. В соответствии с базой данных The Protein Atlas [16], экспрессия этой молекулы ограничена кишечником и мочевыделительной системой, т.е. TSPAN1 также является ткане-специфичным маркером ВНВ, секретируемым клетками КРП.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, результаты нашего исследования и работы корейских коллег подтверждают ряд выводов:

1. Клетки КРП секретируют ВНВ, в состав которых входят ткане-специфичные протеины.
2. Количественный анализ везикул, в состав которых входят такие протеины, имеет диагностический потенциал.
3. Методы иммуносорбции могут быть использованы для выделения (или обогащения) и последующего анализа фракции ВНВ, секретируемых клетками КРП. Проведение дальнейших исследований в этом направлении необходимо для расширения списка «маркеров» ВНВ, секретируемых клетками КРП (1), оптимизации технологии специфического выделения этих везикул (2), применения методов последующего качественного анализа этой специфической везикулярной фракции. Наиболее перспективным представляется анализ микроРНК из фракции ткане-специфичных ВНВ. Достижение этих целей будет основой для создания эффективного метода неинвазивной диагностики КРП.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: Назарова И.В., Малек А.В.

Сбор и обработка материалов: Назарова И.В., Котова З.С., Семиглазова Т.Ю., Служев М.А., Семиглазов В.В., Гоголев А.Б., Артемьева А.С., Рыбаков Е.Г.

Статистическая обработка: Назарова И.В., Слюсаренко М.А.

Написание текста: Назарова И.В., Малек А.В.



Редактирование: Никифорова Н.С., Сидина Е.И.

#### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Nazarova I.V., Malek A.V.

Collection and processing of the material: Nazarova I.V., Kotova Z.S., Semiglazova T.Yu., Sluzhev M.A., Semiglazov V.V., Gogolev A.B., Artem'eva A.S., Rybakov E.G.

Statistical processing: Nazarova I.V., Slyusarenko M.A.

Writing of the text: Nazarova I.V., Malek A.V.

Editing: Nikiforova N.S., Sidina E.I.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

ORCID

Назарова И.В. 0000-0002-6812-3088

Никифорова Н.С. 0000-0001-7464-4237

Сидина Е.И. 0000-0003-4174-2839

Слюсаренко М.А. 0000-0002-3677-1558

Котова З.С.

Семиглазова Т.Ю. 0000-0002-4305-6691

Служев М.А. 0000-0002-6346-1029

Семиглазов В.В.

Гоголев А.Б. 0000-0001-9885-1177

Артемьева А.С. 0000-0002-2948-397X

Рыбаков Е.Г.

Малек А.В. 0000-0001-5334-7292.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

ORCID

Nazarova I.V. 0000-0002-6812-3088

Nikiforova N.S. 0000-0001-7464-4237

Sidina E.I. 0000-0003-4174-2839

Slyusarenko M.A. 0000-0002-3677-1558

Semiglazova T.Yu. 0000-0002-4305-6691

Sluzhev M.A. 0000-0002-6346-1029

Gogolev A.B. 0000-0001-9885-1177

Artemyeva A.S. 0000-0002-2948-397X

Rybakov E.G. 0000-0002-3919-9067

Malek A.V. 0000-0001-5334-7292

## ЛИТЕРАТУРА

1. Пузанов Д.П., Половинкин В.В., Пузанова И.А. Скрининг коло-ректального рака. Обзор существующих мейодов и рекомендаций. *Инновационная медицина Кубани*. 2018; №1, с.58–64.
2. Bénard F, Barkun AN, Martel F, von Renteln D. Systematic review of colorectal cancer screening guidelines for average-risk adults: Summarizing the current global recommendations. *World J Gastroenterol*. 2018; 7:124–138.
3. Stanciu J, Tariman J. Liquid Biopsy: A Tool for the Diagnostic and Prognostic Evaluation of Cancers. *Clin J Oncol Nurs*. 2020; 24:19–21.
4. Brahmer A. et al. Platelets, endothelial cells and leukocytes contribute to the exercise-triggered release of extracellular vesicles into the circulation. *J Extracell Vesicles*. 2019 May 28; 8(1):1615820. DOI: 10.1080/20013078.2019.1615820
5. Larssen P. et al. Tracing Cellular Origin of Human Exosomes Using Multiplex Proximity Extension Assays. *Mol Cell Proteomics*. 2017; 16:1547–1547.
6. Kobayashi M. et al. A Pilot Trial to Quantify Plasma Exosomes in Colorectal Cancer Screening from the International Collaborative Study between Chile and Japan. *Digestion*. 2018; 98:270–274.
7. Wang L, Duan W, Yan S, Xie Y. et al. Circulating long non-coding RNA colon cancer-associated transcript 2 protected by exosome as a potential biomarker for colorectal cancer. *Biomed Pharmac other*. 2019 May 14; 113:108758. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108758
8. Ogata-Kawata H. et al. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Colon Cancer. *PLoS One*. 9, 2014; e92921.
9. Замбалова Е.А. et al. Экзосомальные протеиназы при коло-ректальном раке. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018; №5, с.117–126.
10. Lewis JM. et al. Integrated Analysis of Exosomal Protein Biomarkers on Alternating Current Electrokinetic Chips Enables Rapid Detection of Pancreatic Cancer in Patient Blood. *ACS Nano*. 2018; 12:3311–3320.
11. Zhang Y, Mi X, Tan X. et al. Recent Progress on Liquid Biopsy Analysis using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Theranostics*. 2019; 9:491–525.
12. Santasusagna S. et al. Proteomic Analysis of Liquid Biopsy from Tumor-Draining Vein Indicates that High Expression of Exosomal ECM1 Is Associated with Relapse in Stage I-III Colon Cancer. *Transl. Oncol*. 2018; 11:715–721.
13. Theodoraki M-N, Matsumoto A, Beccard I, et al. CD44v3 protein-carrying tumor-derived exosomes in HNSCC patients' plasma as potential noninvasive biomarkers of disease activity. *Oncimmunology*. 2020; 9:1747732.
14. Ferrone S, Whiteside TL. Targeting CSPG4 for isolation of melanoma cell-derived exosomes from body fluids. *HNO*. 2020; 68:100-105.
15. Théry C, Amigorena S, Raposo G. et al. Isolation and Characterization of Exosomes from Cell Culture Supernatants and Biological Fluids. *Curr Protoc Cell Biol*. 2006; 30, 3.22.1-3.22.29.
16. www.proteinatlas.org. The Human Protein Atlas.
17. www.uniprot.org. UniProt Consortium.
18. www.exocarta.org. ExoCarta.
19. Linnekamp JF. et al. Consensus molecular subtypes of colorectal cancer are recapitulated in in vitro and in vivo models. *Cell Death Differ*. 2018; 25:616–633.
20. Théry C. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018; 23(7):1535750. DOI:10.1080/20013078.2018.1535750
21. Mannavola F. et al. Revisiting the Role of Exosomes in Colorectal Cancer: Where Are We Now? *Front Oncol*. 2019 Jun 19; 9:521. DOI: 10.3389/fonc.2019.00521. eCollection 2019.
22. Takano Y. et al. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8:78598–78613.
23. WANG X. et al. Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer/liver metastasis. *Oncol Rep*. 2015; 33:2445–2453.
24. Самсонов Р.Б. et al. Диагностическое значение экзосомальных МикроРНК при коло-ректальном раке. *Колопроктология*. 2018; №2 (64), с.25-31.
25. Lee C-H, Im E-J, Moon P-G et al. Discovery of a diagnostic biomarker for colon cancer through proteomic profiling of small extracellular vesicles. *BMC Cancer*. 2018; 18:1058.



## REFERENCES

1. Puzanov D.P., Polovinkin V.V., Puzanova I.A. Colorectal cancer screening. current techniques and recommendations review. *Innovative medicine of Kuban*. 2018; no.1, pp.58-64. (in Russ.).
2. Bénard F, Barkun AN, Martel F, von Renteln D. Systematic review of colorectal cancer screening guidelines for average-risk adults: Summarizing the current global recommendations. *World J Gastroenterol*. 2018; 7:124–138.
3. Stanciu J, Tariman J. Liquid Biopsy: A Tool for the Diagnostic and Prognostic Evaluation of Cancers. *Clin J Oncol Nurs*. 2020; 24:19-21.
4. Brahmer A. et al. Platelets, endothelial cells and leukocytes contribute to the exercise-triggered release of extracellular vesicles into the circulation. *J Extracell Vesicles*. 2019 May 28; 8(1):1615820. DOI: 10.1080/20013078.2019.1615820
5. Larssen P. et al. Tracing Cellular Origin of Human Exosomes Using Multiplex Proximity Extension Assays. *Mol Cell Proteomics*. 2017; 16:1547–1547.
6. Kobayashi M. et al. A Pilot Trial to Quantify Plasma Exosomes in Colorectal Cancer Screening from the International Collaborative Study between Chile and Japan. *Digestion*. 2018; 98:270–274.
7. Wang L, Duan W, Yan S, Xie Y. et al. Circulating long non-coding RNA colon cancer-associated transcript 2 protected by exosome as a potential biomarker for colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*. 2019 May 14; 113:108758. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108758
8. Ogata-Kawata H. et al. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Colon Cancer. *PLoS One*. 9, 2014; e92921.
9. Zambalova E.A. et al. Exosomal proteases in colorectal cancer. *Advances in Molecular Oncology*. 2018; no.5(4), pp.117-126. (In Russ.).
10. Lewis JM. et al. Integrated Analysis of Exosomal Protein Biomarkers on Alternating Current Electrokinetic Chips Enables Rapid Detection of Pancreatic Cancer in Patient Blood. *ACS Nano*. 2018; 12:3311–3320.
11. Zhang Y, Mi X, Tan X. et al. Recent Progress on Liquid Biopsy Analysis using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Theranostics*. 2019; 9:491–525.
12. Santasusagna S. et al. Proteomic Analysis of Liquid Biopsy from Tumor-Draining Vein Indicates that High Expression of Exosomal ECM1 Is Associated with Relapse in Stage I-III Colon Cancer. *Transl. Oncol*. 2018; 11:715–721.
13. Theodoraki M-N, Matsumoto A, Beccard I, et al. CD44v3 protein-carrying tumor-derived exosomes in HNSCC patients' plasma as potential noninvasive biomarkers of disease activity. *Oncoimmunology*. 2020; 9:1747732.
14. Ferrone S, Whiteside TL. Targeting CSPG4 for isolation of melanoma cell-derived exosomes from body fluids. *HNO*. 2020; 68:100-105.
15. Théry C, Amigorena S, Raposo G. et al. Isolation and Characterization of Exosomes from Cell Culture Supernatants and Biological Fluids. *Curr Protoc Cell Biol*. 2006; 30, 3.22.1-3.22.29.
16. www.proteinatlas.org. The Human Protein Atlas.
17. www.uniprot.org. UniProt Consortium.
18. www.exocarta.org. ExoCarta.
19. Linnekamp JF. et al. Consensus molecular subtypes of colorectal cancer are recapitulated in in vitro and in vivo models. *Cell Death Differ*. 2018; 25:616–633.
20. Théry C. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018; 23(7):1535750. DOI:10.1080/20013078.2018.1535750
21. Mannavola F. et al. Revisiting the Role of Exosomes in Colorectal Cancer: Where Are We Now? *Front Oncol*. 2019 Jun 19; 9:521. DOI: 10.3389/fonc.2019.00521. eCollection 2019.
22. Takano Y. et al. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8:78598–78613.
23. WANG X. et al. Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer liver metastasis. *Oncol Rep*. 2015; 33:2445–2453.
24. Samsonov R.B. et al. Diagnostic value of exosomal miRNAs for colorectal cancer. *Koloproktologia*. 2018; no.2(64), pp.25-31. (In Russ.).
25. Lee C-H, Im E-J, Moon P-G et al. Discovery of a diagnostic biomarker for colon cancer through proteomic profiling of small extracellular vesicles. *BMC Cancer*. 2018; 18:1058.

# COLORECTAL CANCER DIAGNOSTICS VIA DETECTION OF TISSUE-SPECIFIC EXTRACELLULAR NANO-VESICLES

Inga V.Nazarova<sup>1,2</sup>, Nadezhda S.Nikiforova<sup>1,2</sup>, Elena I.Sidina<sup>1,2</sup>, Maria A.Slyusarenko<sup>1,2</sup>, Zarina S.Kotova<sup>1</sup>, Tatyana Yu.Semiglazova<sup>1</sup>, Maksim A.Sluzhev<sup>1</sup>, Vladislav V.Semiglazov<sup>5,1</sup>, Artyom B.Gogolev<sup>1</sup>, Anna S.Artemyeva<sup>1</sup>, Evgeny G.Rybakov<sup>3</sup>, Anastasia V.Malek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of Russia (Leningradskaya str., 68, Pesochny, St. Petersburg, 197758, Russia)

<sup>2</sup>Onco-System Co Ltd. (Lugovaya str., 4, building 9, office 16, The innovation center "Skolkovo", Moscow, 143026, Russia)

<sup>3</sup>Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

<sup>4</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kirochnaya str., 41, Saint-Petersburg, 191015, Russia)

<sup>5</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (L.Tolstogo str., 6/8, St.-Petersburg, 197089, Russia)

*The development of methods for effective diagnosis and monitoring of colorectal cancer (CRC) treatment is one of the basic scientific problem. The circulating plasma contains extracellular nanovesicles (EVs) secreted mainly by blood and endothelial cells. The minor fraction of plasma EVs is produced by cells of various tissues, including cells of the intestinal epithelium. The biochemical composition of such vesicles should have tissue-specific features. Presented study was aimed to identify surface markers of EVs secreted by intestinal epithelium cells and to assess the possibility of isolating and quantification of such vesicles for the diagnosis of CRC. The cell cultures (HCT-116, HT-29, COLO-320, HuTu-80, SW837), plasma of CRC patients and healthy donors were used in the study. The methods of nanoparticle tracking analysis (NTA), atomic force microscopy (AFM), dot-blotting and flow cytometry were applied for EVs characterization. With the original technology of immunosorption we have demonstrated an increased amount of CLRN3, GAL4 and Meprin A, i.e. positive EVs in plasma of CRC patients comparing to healthy donors. Based on the quantitative analysis of such EVs, new methods of diagnostics and monitoring of CRC therapy can be developed.*

**[Key words: colorectal cancer, extracellular nanovesicles, tissue-specific markers, exosomes, diagnostics]**

**CONFLICTS OF INTERESTS: The authors declare no conflicts of interest.**

*For citation: Nazarova I.V., Nikiforova N.S., Sidina E.I., Slyusarenko M.A., Kotova Z.S., Semiglazova T.Yu., Sluzhev M.A., Semiglazov V.V., Gogolev A.B., Artem'eva A.S., Rybakov E.G., Malek A.V. Colorectal cancer diagnostics via detection of tissue-specific extracellular nanovesicles. Koloproktologia. 2020; v.19, no.4, pp. 32-56. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-32-56>*

**Address for correspondence: Malek A.V., N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Pesochny-2, Leningradskaya str, 68, St.-Petersburg, 197758, Russia; e-mail: [Anastasia@malek.com](mailto:Anastasia@malek.com)**

Received – 12.08.2020

Revised – 08.09.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) occupies one of the leading positions in the structure of cancer mortality, which justifies the relevance of developing new methods of screening and early diagnosis. Clinical guidelines, Russian [1] and foreign [2], over the past decades have been reduced to various combinations of endoscopic

technologies and methods for detecting occult blood in the stool, but both approaches have limitations.

Active research is underway to develop methods for analyzing circulating plasma components [3], although none of the variants of the so-called "liquid biopsy" technology has yet been brought to practical use. One of the main reasons for this situation is the lack of reliable molecular markers of CRC.

Identification and creation of methods for analysis of

multi-molecular circulating complexes, for example, extracellular nanovesicles (EVs), is a solution to the problem. Circulating plasma contains about 10<sup>11</sup>-10<sup>12</sup>EVs/ml. This is a heterogeneous population of membrane vesicles secreted mainly by blood and endothelial cells [4]. The minor fraction of these vesicles enters the plasma stream from cells of various tissues [5]. The fraction of tissue-specific vesicles reflects the biochemical composition of the cells of the corresponding organs and it can have diagnostic potential. If this fraction is significant compared to the total population of circulating vesicles, its quantitative or qualitative changes may affect the number or composition of plasma vesicles. For example, an increase in the total concentration of all circulating nanovesicles of endosomal origin (or exosomes) has been described in patients with CRC [6]. Despite the apparently low diagnostic specificity of this approach, the study authors recommended quantitative analysis of circulating exosomes as a screening method. On the other hand, the detection of a specific fraction of EVs in plasma containing CRC-associated RNA [7], microRNA [8], or proteases [9] may have a higher diagnostic specificity than just counting vesicles. However, the complexity of detecting a minor fraction of the EVs with certain biochemical characteristics in the "background" population of all plasma vesicles compromises the diagnostic sensitivity and practical significance of this approach.

We can assume two fundamental solutions of the problem. First, the use of ultra-sensitive technologies for detecting vesicular markers using, for example, electrokinetic chips [10] or surface-enhanced raman spectroscopy [11]. Second, development of methods for concentration (ideally, specific isolation) of vesicles secreted by CRC cells. A simple example of this approach is the method of analyzing vesicles from a plasma sample obtained from mesentery veins [12], but the practical application of this method seems to be complicated. The concentration of a separate fraction of vesicles from plasma obtained in the traditional way using immune-sorption technologies is more promising, and it has already been implemented as part of the development of methods for the diagnosis of squamous cell carcinoma of the head and neck [13] and melanoma [14].

The present study is based on the assumption that intestinal epithelial cells secrete a specific set of membrane proteins, and these proteins can be secreted as part of the EVs membrane. During the development of CRC, cells of medium- or high-differentiated tumors retain tissue differentiation, their outer membrane and the membrane of their secreted EVs contain tissue-specific markers. These markers can be used to isolate and analyze tissue-specific EVs, and an increase in the

concentration of such vesicles in plasma can serve as a sign of the development of CRC

## MATERIALS AND METHODS

### Biological Material

Biological material was obtained from donors and patients who were examined or treated at the N.N.Petrov National Medical Research Center of Oncology of Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg) and the Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow). The venous blood was collected in vacutainers with EDTA, plasma was separated within 10 minutes after blood collection, frozen and stored at -80°C. The material of epithelial scrapings was obtained directly after surgeries from sites of the unchanged intestinal wall.

### Cells

We used five stable cell lines HCT-116, HT-29, COLO-320, HuTu-80, SW837, obtained from the cell culture collection of the Institute of Cytology RAS (Saint-Petersburg). The cells were cultured in RPMI-1640 with the addition of 10% embryonic bovine serum and a mixture of Pen-Strep antibiotics, 100 mcg/ml (all from Biolot LLC, Russia) under standard conditions. For the experiments on flow cytometry and dot-blotting, the cells were grown to a density of no more than 70%, removed from the substrate with a mixture of trypsin (0.025%) and Versen (1:1) solutions, washed with a phosphate-salt buffer (FSB) and diluted to a concentration of 1×10<sup>6</sup> cells/ml. To isolate EVs, the cells were cultured under standard conditions in a medium containing 10% veal serum without EVs, and the conditioned cell medium was accumulated over several passages to a volume of 200 ml.

### Isolation of Nano-vesicles

To isolate EVs, the plasma (2 ml) was thawed to +4°C, diluted 1:1 in a phosphate-salt buffer (FSB), and sequentially centrifuged 300g – 10', 2,000g – 10', and 10,000g – 10' to precipitate cellular detritus and large membrane vesicles. Exosomes were isolated from the supernatant by ultracentrifugation (Beckman Coulter: Optima XPN 80, rotor 70.1 Ti/k-factor 36, rotor 45Ti/k-factor 133) according to the classical procedure [15] with minor modifications. The plasma solution was centrifuged for 110,000 g - 2 hours, the supernatant was removed, and the precipitate was dissolved in 100 ml of the FSB. To isolate exosomes secreted by the cells in vitro, the culture medium was also purified from cellular detritus and large membrane vesicles by differential centrifugation, then was ultracentrifuged at 110,000 g overnight, at +4°C. The sediment containing exosomes

was diluted in 100 µl FSB for subsequent analysis.

### **Dot-blotting**

To detect the total content of “marker” proteins in biological samples (intestinal epithelial scrapings, cell cultures, or EVs), the material was lysed using a RIPA buffer solution (Thermo Scientific, USA). When studying the expression of proteins in the surface membrane, suspensions of cells or vesicles in the FSB were used. The total protein concentration in the samples was evaluated by the Bradford method and equalized to 1 microgram/microl. The samples were applied to a nitrocellulose membrane (each “dot” - 0.5 µl) with a pore size of 0.45 microns (BioRad Laboratories, USA), blocked (Tris-buffer salt solution (TBS), 0.05% Tween-20, 5% bovine serum albumin (all from Sigma, USA)), for 1 hour. Primary antibodies (shown in Table 1) were used in the concentrations recommended by the manufacturer. Incubation was performed for 30 minutes, then the membrane was “washed” in a TBS solution with 0.05% Tween-20 three times for 5 minutes, and was incubated with secondary antibodies labeled with horseradish peroxidase (Ab6721, Ab6789) at a dilution of 1:20,000 for 30 minutes. After three times “washing” of the membrane, detection of peroxidase activity was performed by chemiluminescent reaction using Pierce ECL Western Blotting Substrate (Thermo Scientific, USA) and Invitrogeni Bright FL1500 Imaging System (Thermo Fisher, USA). The data obtained was processed in the Image J software, USA.

### **Nanoparticles Tracking Analysis (NTA)**

The measurements were performed using the Nanosight NS300 analyzer (“Malvern”, USA). Each sample was studied in 4-5 different micro volumes by pumping the sample through a chamber. The duration of each measurement is 60 seconds. Camera level: 14, shutter slider: 1259, slider gain: 366, threshold level: for draft – 5, for VF2 – 6. The experimental data was analyzed using Nanosight NTA 3.2 Software.

### **Atomic Force Microscopy (AFM)**

It was used to study the shape and size distribution of particles. The measurements were performed using a scanning probe microscope NT-MDT Solver Bio (“NT-MDT”, Russia). The mode was semi - contact, the probe was NSG01\_DLC (“NT-MDT”, Russia). The samples were applied to the mica surface (“2SPI”, USA) immediately after the top layer was removed. Then incubation was performed for 30 seconds, followed by double washing with distilled water.

Next, it was dried with compressed air. Image processing and analysis were performed in Gwyddion software (gwyddion.net) and Image Analysis (“NT-MDT”, Russia).

### **Flow Cytometry (FC) for Cell Analysis**

The cell suspension ( $1 \times 10^6$  C/ml) in the FSB was aliquoted to 100 µl, precipitated by centrifugation at 1,000g, the supernatant was removed, 100 µl of FACS-blocking buffer (1% BSA dissolved in the FSB) was added, incubated for 30 minutes on ice, then the supernatant was again precipitated and removed. In the case of analysis of the content of the “marker” proteins in the cytoplasm, the cells were processed using the BD Cytofix/CytoPerm Kit (Becton Dickinson and Company, USA). The cells were incubated with primary antibodies (Table1) in a dilution of 1:200 for 30' at +4°C. After three times “washing” in the FSB, the cells were incubated with secondary antibodies labeled with FITC at a dilution of 1:1,000 for 30' at +4°C and washed three times with the FSB. The cells prepared in this way were resuspended in 200 ml of the FSB and analyzed.

### **Flow Cytometry (FC) for Analysis of Total EVs Population**

Sample preparation was carried out using a commercial Exo-FACS kit (Hansa BioMed, Estonia) according to the manufacturer's protocol and meant non-specific fixation of the EVs to latex micro-spheres. Detection of “exosomal” CD63 and CD9 markers was performed using antibodies conjugated with FITC fluorescent tags (CD63-FITC, Ab18235, Abcam, USA) PE (CD9-PE, 312105, Bio Legends, USA). Detection of tissue-specific proteins was performed using primary antibodies to the corresponding proteins (Table 1) and secondary fluorescently labeled antibodies (Ab6717, Ab6785 Abcam, USA).

### **Creation of Immuno-particles and Flow Cytometry (FC) for Analysis of EVs Isolated by Immuno-sorption**

For this study, were made immuno-particles that bind vesicles with “marker” proteins (Meprin alpha, CLRN3, GAL4) on the surface (Fig. 6). The corresponding antibodies (Table1) were purified from preservative (sodium azide), concentrated using a set of Amicon Ultra-0.5 mL Centrifugal Filters for DNA and Protein Purification and Concentration (Millipore, Ireland), and conjugated with Biotin using a set of Pierce Antibody Biotinylation Kit for IP (Thermo Scientific, USA). The effectiveness of the biotin binding reaction was evaluated using the Pierce Biotin Quantification Kit (Thermo Scientific, USA). Biotinylated antibodies (10 µl) were incubated with superparamagnetic particles, SPMP (1 µl), whose surface was modified with streptavidin (Silex LLC, Moscow) for an hour at +4°C. As a result of the formation of the biotin-streptavidin bond during this incubation, SPMP-AB complexes or immuno-particles were formed (Fig.6A), the physical characteristics of which determine the possibility of

their analysis by flow cytometry.

The immuno-particles prepared in this way were incubated with the EVs isolated by ultra-centrifugation in a volume of 100 µl over the night at +4°C (Fig.6B). The resulting complex “SPMP-AB-EVs” (Fig.6B) was washed 3 times with the FSB on a magnetic tripod, blocked in 200 µl of 0.2% Tropixi-Block buffer (Thermo Fisher, USA) for 1 hour at +4°C, and washed twice with the FSB 2 times. To quantify the associated EVs, the complexes were incubated with antibodies to the classic “exosomal” marker CD63 (CD63-FITC, Ab18235, Abcam, USA) for 2 hours at +4°C in the dark. The resulting complexes were washed 2 times, diluted in 200 FSB and analyzed. As a negative control, the SPMP-AB complex without exosomes was used, “underwent” through similar blocking procedures, labeling with CD63-FITC antibodies, and washing.

All the tests were performed on a Cytoflex flow cytometer (Beckman Coulter, USA) equipped with a 488 nm argon laser for measuring forward scattering light (FSC) and side scattering (SSC). The results were analyzed using CytExpert (Beckman Coulter, USA) and Excel (Microsoft) software.

### Funding and Ethical Justification

The study plan was approved by the local ethics committee of the Petrov NMRC of Oncology (St. Petersburg), the study was carried out as a research work AAAA-A18-118012390156-5 in cooperation with the Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Moscow). All the patients signed an informed consent to participate in the study. The biological material

was included in the study after depersonalization of the clinical data.

## RESULTS

### Selection of Potential Markers

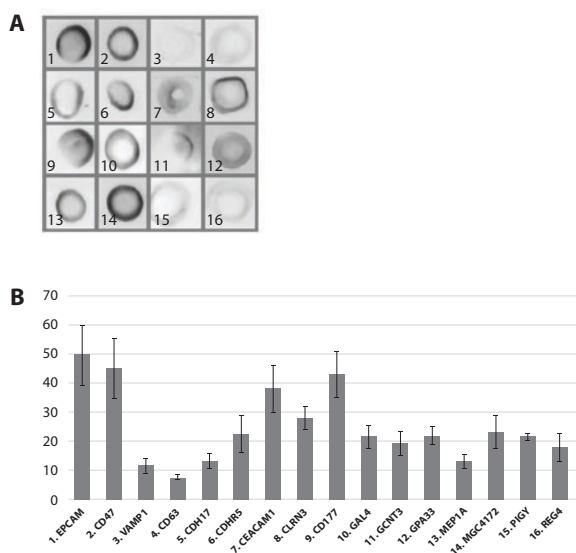
In order to identify potential exosomal CRC markers, the available databases were analyzed (Human Protein Atlas [16], Uni Prot [17]). There were selected 12 molecules that were characterized by expression (exclusively or predominantly) in intestinal epithelial cells, membrane intracellular localization, and the absence of secreted (circulating) forms. Thus, the results of the analysis are summarized in Table 1. All the selected molecules (except CDH177 and DHRS11) were previously detected in the composition of EVs secreted by human cells, which is reflected in the Exo Carta database [18]. CDH177 and DHRS11 have so far been detected in the EVs secreted by ratline cells, indicating that they may be present in vesicles secreted by human intestinal epithelial cells.

In order to positively control the detection system, two proteins (EpCAM and CD47) were included in the analysis, the active expression of which is characteristic of all epithelial cells. The “classic” exosomal marker CD63 and VAMP1, a molecule detected in the membrane of various types of vesicles, not only exosomes, were used as positive controls for the detection of vesicular markers. In addition to information about the tissue-specific nature of expression and intracellular localization, the selection of potential markers took into account data on the function of the protein, which

**Table 1.** The list of potential markers of EVs secreted by the cells of CRC.

Gene Symbol	Uni Prot ID	Exo Carta ID	Name of protein	Cellular function	Antibodies
<b>EPCAM</b>	P16422	4072	Epithelial Cell Adhesion Molecule	Physical homophilic interaction molecule	ab20160
<b>CD47</b>	Q08722	282661	CD47 molecule	Cell adhesion	ab108415
<b>CD63</b>	P08962	967	TSPAN30	Lysosomal-Associated Membrane Protein	ab59479
<b>VAMP1</b>	P23763	6843	Vesicle Associated Membrane Protein 1	Endoplasmic reticulum unfolded protein response	ab151712
<b>CEACAM5</b>	P06731	1048	CEA-related cell adhesion molecule 5	Cell surface glycoprotein	ab190718
<b>CD177</b>	Q8N6Q3	(RAT)	CD177 molecule	Formation of with beta-2 integrin heterodimer	ab203025
<b>CDH17</b>	Q12864	1015	Cadherin 17	Cadherins are calcium-dependent cell adhesion proteins	ab109220
<b>CDHR5</b>	Q9HBB8	53841	Cadherin-related family member 5	Intermicrovillar adhesion molecule	ab189111
<b>CLRN3</b>	Q8NCR9	119467	Clarin 3	Integral component of membrane	ab177695
<b>DHRS11</b>	DHRS11	(RAT)	Dehydrogenase/reductase member 11	Steroid metabolism	ab98276
<b>GCNT3</b>	O95395	9245	Glucosaminyl (N-acetyl) transferase 3	Synthesis of mucin beta 6 N-acetylglucosaminides	ab98134
<b>GPA33</b>	Q99795	10223	Cellsurface A33 antigen	Cell-cell recognition and signaling	ab108938
<b>LGALS4</b>	P56470	3960	Lectin, galactoside-binding, soluble, 4	Assembly of adherens junctions	ab170638
<b>MEP1A</b>	Q16819	4224	Meprin A, alpha	Hydrolysis of protein and peptide substrates	ab107548
<b>PIGY</b>	Q3MUY2	84992	GPI-GlcNAc transferase	Modification of cell surface proteins	ab79453
<b>REG4</b>	Q9BYZ8	83998	Regenerating family member 4	Calcium-independentlectin	ab200723





**Figure 1.** Analysis of the expression of potential markers in large intestine epithelial scrapings dot-blotting method. A. Representative example of analysis of 16 molecules in one sample. B. Results averaged for 5 samples

suggested the possibility of its “appearance” in the composition of the EVs membrane.

### Evaluation of Expression of Selected Molecules in Colorectal Epithelium

In order to verify the expression of the selected proteins, samples (n=5) of epithelial scraping from sites of the normal intestinal wall after hemicolectomy were collected. The protein lysates were normalized to the total protein content by the Bradford method, 2 µl of lysate was applied to the nitrocellulose membrane,

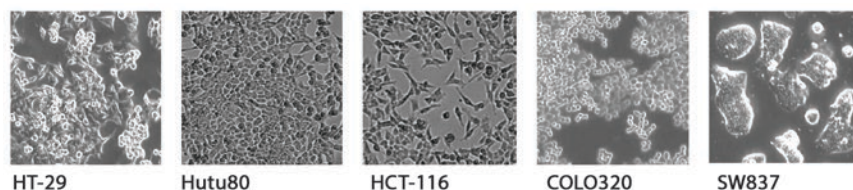
and the relative content of each of the 16 selected molecules (including 4 controls) was analyzed using dot-blotting. Figure 1A shows a representative example of the results of a single sample analysis. The data for all the samples was digitized and normalized relative to the average signal intensity. The average values for the five samples are shown in Figure 1B. The presented results confirm the high level of EpCam and CD47 proteins, the expression of which is expected in cells of all epithelial types. Low expression of vesicular markers (VAMP1 and CD63) was detected. The expression of the remaining molecules was clearly determined, with varying degrees of intensity. Relatively high levels of expression were observed in CEACAM1 and CD177, while low levels were observed in CHD17 and MEP1A (Meprin A). The obtained results confirmed the fact of expression of the selected proteins in the colorectal epithelium and justified the assumption that they may be present in the composition of EVs secreted by cells of normal intestinal epithelium and transformed epithelium that preserved tissue differentiation.

### Evaluation of Expression of Selected Molecules in Colorectal Carcinoma Cells In Vitro

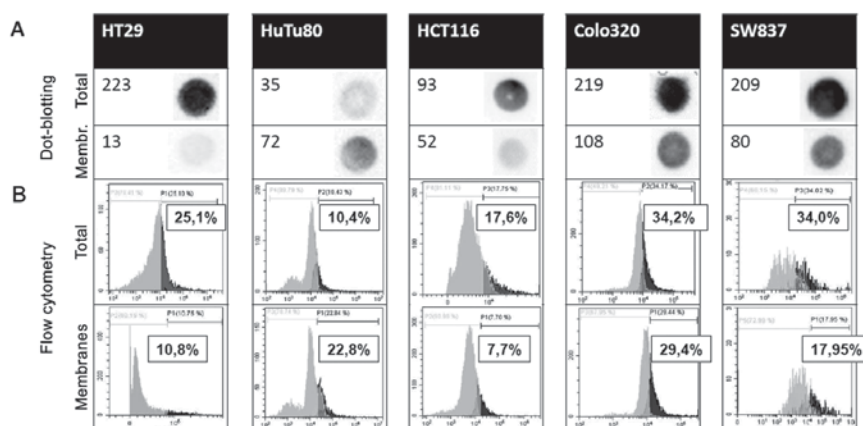
The task of the next stage of the study was to analyze the expression of selected proteins by intestinal epithelial cells in order to further evaluate their secretion in the composition of EVs in vitro. This approach made it possible to work with a “pure” population of EVs secreted by intestinal epithelial cells. Five stable lines obtained from the material of adenocarcinomas of various parts of the gastrointestinal tract were selected (Table2). The lines used had different genetic characteristics and morphology (Fig.2). All the lines were derivatives of highly or moderately differentiated intestinal epithelial adenocarcinomas and retained the

**Table 2.** Cell lines.

Cell line	Primary tumor		Features of xenograft tumor in vivo model
	Site	Histologicalform	
HT-29	Colon	Adenocarcinoma, G-II	Highly differentiated adenocarcinoma (G-I)
HuTu89	Duodenum	Adenocarcinoma, G-III	Highly differentiated adenocarcinoma (G-I)
HCT-116	Colon	Adenocarcinoma, G-III	Moderately differentiated tumor (G-II), distant metastases
COLO320	Colon	Adenocarcinoma, G-II	Highly differentiated adenocarcinoma (G-I)
SW837	Rectum	Adenocarcinoma, G-IV	Highly differentiated adenocarcinoma (G-III)



**Figure 2.** Morphology of the cell lines used



**Figure 3.** Results of analysis of the level of GAL3 molecule expression by cells of five lines

A. Dot-blotting analysis using cell lysate (upper row of "Total" – total GAL3 protein content in cells) and using unchanged cells (lower row of "Membrane" – GAL3 protein content in the surface membrane)

B. Analysis performed using flow cytometry, after the cell membrane permeabilization procedure (upper row of "Total" - the total content of GAL3 protein in cells) and when using cells with an unchanged membrane (lower row of "Membrane" – the content of GAL3 protein in the surface membrane)

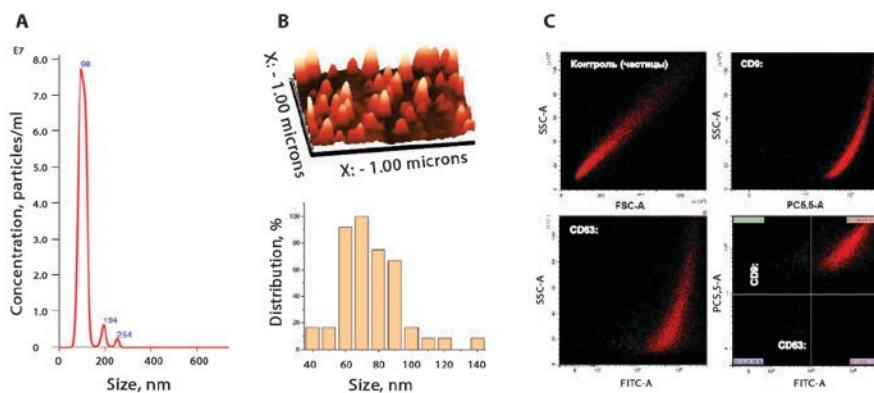
ability to form xenograft tumors of similar morphology [19]. This fact allowed us to assume that the expression of tissue-specific proteins was preserved in the cells of these lines, and these proteins can be detected in the EVs secreted by cells. Before starting the time-consuming stage of isolation and analysis of EVs, we evaluated the relative level of expression of potential markers by CRC cells.

To increase the reliability of the results, we used two technologies: dot-blotting and flow cytometry. Both methods allow us to evaluate the total protein content in cells and separately analyze their content in the surface cell membrane. It was assumed that the detection of "potential markers" in the composition of the cell membrane increased the chances of "presence" of these proteins in the membrane of secreted EVs cells. Thus, total and membrane expression of each of the 16 "potential" markers was evaluated in cells of five lines using two technologies. The results obtained by dot-blotting are presented in Table 3 (columns "cells": M (membrane) and T (total)), a representative example of the data obtained for a single protein by dot-blotting and flow cytometry (GAL4) is shown in Figure 3. This example shows that both methods show similar ratios of the total and membrane fractions of the GAL4 protein in cells of different lines. For example, in HT29 cells, this protein is found mainly in the cytoplasm, and in HuTu80 cells – as part of the surface membrane. Thus, the ratios determined using dot-blotting were confirmed by the results of flow cytometry for other cell lines. Therefore, the dot-blotting technique was

chosen for subsequent EVs studies as simpler and more reliable.

### Isolation and Analysis of EVs Secreted by Cells In Vitro

Before studying the expression of "potential" CRC markers in the composition of EVs secreted by cells, vesicles were isolated from the culture medium and examined in accordance with the ISEV recommendations [20]. The size and concentration of the isolated nanoparticles were estimated using the nanoparticles tracking analysis (NTA). After recalculation of the obtained data taking into account the initial volume of the medium, the concentration of nanoparticles fluctuated in the range of  $2 \cdot 10^8$ – $10^9$ /ml. The size of the major fraction of nanoparticles was estimated in the range of 80–110 nm. A representative example of the measurement results is shown in Figure 4A. The morphology and degree of heterogeneity of the isolated nanoparticles were evaluated using atomic force scanning microscopy (AFM). An example of the resulting image is shown in Figure 4B (upper panel). The particle sizes were digitized, and the particle size distribution is shown in the histogram (Fig. 4, lower panel). According to the data obtained, the isolated particles are represented by a relatively homogeneous population, with a monomodal size distribution (the size of the major fraction is 60–80 nm). The difference in the results of particle size estimation is determined by the features of the analysis methods: in the case of NTA, the hydrodynamic radius of the particles in the



**Figure 4.** Analysis of EVs isolated from the cultural medium (HT-29)

A. Evaluation of the size and concentration of EVs using nanoparticle tracking analysis (NTA)

B. Evaluation of the degree of homogeneity of the population of isolated EVs using atomic force microscopy (AFM). Above is an image of a fragment of the substrate with vesicles fixed on it. Below is a histogram of the vesicle size distribution.

C. Analysis of the expression of “exosomal” markers CD63 and CD9 on the vesicle membrane using the Exo FACS kit (Hansa BioMed, Estonia). Vesicles were isolated by ultra-centrifugation and non-specifically fixed to latex micro-spheres. After incubation with fluorescently labeled antibodies (CD9 or CD63), an analysis of the fluorescence intensity was performed for the corresponding channels (FITC, PC5.5). The lower right square is the result of combining data on two channels: 98.5% of particles with fixed EVs bind both antibodies, i.e. almost all vesicles are positive for two “exosomal” markers

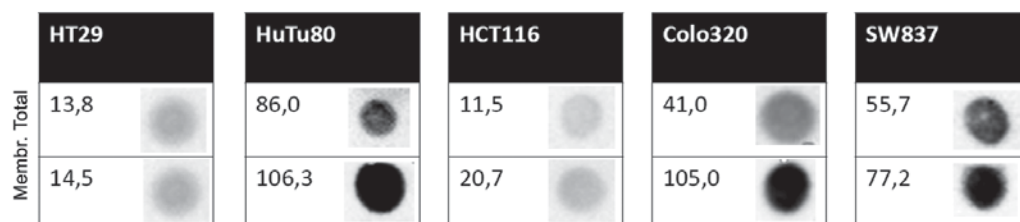
suspension is calculated, and the AFM estimates the size of the particles fixed to the mica surface, washed and dried. In general, the results obtained for evaluating the physical characteristics of the particles isolated from the culture medium suggest their vesicular nature. To assess the presence of classical “exosomal” markers on the particle surface, the particles were fixed to latex micro-spheres and incubated with antibodies to CD63 and CD9 tetraspanins. Flow cytometry has shown that two channels (FITC-CD63, PE-CD9) detect a fluorescent signal on micro-spheres (98.5%), i.e. both markers are present in the membrane of particles fixed to micro-spheres (Fig.3B). Thus, the particles isolated from the medium are represented, at least partially, by endosomal EVs, or exosomes.

#### Analysis of Expression of Selected Molecules in Composition of EVs Secreted by CRC Cells

The quantitative analysis of “potential” markers in the composition of EVs was carried out by the dot-blotting method, similar to the study of cells in two ways: by applying intact or lysed EVs to the membrane. The first method allows us to study mainly the composition of the surface membrane, and the second – the total composition of vesicular proteins. An example of the results obtained by analyzing the GAL4 protein in vesicles from all five cell lines is shown in Figure 5. Table 3 (columns “EVs”) shows the results for the remaining proteins. In order to assess the fact of the concentration of the studied proteins in the EVs, the content of these molecules in vesicles was expressed

in percents of the content in cells. The values of this parameter averaged for five cell lines are shown in the table (column “EVs/C, %”). The concentration of seven (CLRN3, CD177, GAL4, GCNT3, Mepirin A, MGC4172, PIGY) of 14 proteins, excluding controls (VAMP1, CD63), in EVs was higher in the composition of lysed EVs than in cell lysate. This observation confirms the hypothesis of a possible specific secretion (concentration) of these proteins in the vesicles. Since the molecules in the surface membrane of vesicles can be used as diagnostic markers, we performed a comparative assessment of the content of the studied proteins in the surface membranes of EVs and in the composition of lysed vesicles. This ratio was also expressed in percents, the average values for the EVs of the five cell lines are shown in Table 3 (column “M/T, %”). As expected, the classic “exosomal” marker tetraspanin CD63 is mainly present in the vesicular membrane (179%). Of the studied proteins, mainly membrane localization was determined in CEACAM6, CLRN3, GAL4, and Mepirin A. The results showed that CRC cells secrete CLRN3, GAL4, and Mepirin A proteins as part of the EVs, and these proteins are localized mainly in the vesicular membrane.

This data suggested that the development of CRC may be accompanied by the appearance (increased concentration) in plasma of specific vesicles enriched with CLRN3, GAL4, and/or Mepirin A. The membrane localization of these markers determined the possibility of developing a method for their isolation by immunosorption and detection by flow cytometry.



**Figure 5.** Results of analysis of the AL3 concentration in EVs secreted by CRC cells.

The analysis was carried out by dot-blotting method, when using the EVs lysate (the upper row of "Total" – the total GAL3 protein content in vesicles) and when using unchanged EVs (the lower row of "Membranes" – the GAL4 protein content in the vesicular membrane)

**Table 3.** Results of dot-blotting analysis of the expression of "potential" tissue-specific markers in cells of CRC lines and extracellular vesicles secreted by these cells in vitro. Lysates of cells and vesicles reflecting the total protein content (columns "T") and suspensions of intact cells and vesicles reflecting the level of protein expression in the surface membrane (columns "M").

Cell lines	HT29				HuTu80				HCT116				Colo320				SW837				EVs/ C, %	M/ T, %	
	Material		cells		EVs		cells		EVs		cells		EVs		cells		EVs						
	Cellfraction	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T	M	T				
1	EpCAM	15	99	122	80	100	88	45	25	533	85	131	76	2	24	43	51	301	114	67	70	94,2	136,4
2	CD47	151	159	75	85	30	128	50	81	150	178	43	132	108	107	57	40	111	98	72	105	67,1	78,5
3	VAMP1	42	107	160	151	110	91	185	188	119	90	89	70	111	132	211	208	106	102	150	134	142,9	109,0
4	CD63	160	23	192	92	69	49	110	69	180	153	277	151	163	109	217	130	47	105	231	129	175,5	179,1
5	CDH17	20	85	83	71	305	243	18	219	149	57	107	61	361	67	103	96	325	66	83	73	94,6	104,4
6	CDHR5	199	51	54	87	2	111	30	16	44	100	69	133	115	76	35	100	63	103	54	44	89,4	93,0
7	CEACAM6	37	28	52	38	77	114	58	63	45	104	35	90	56	79	58	49	197	74	36	25	72,4	106,6
8	CLRN3	90	197	320	260	276	95	145	122	87	111	91	48	36	105	238	212	51	99	156	149	131,2	129,5
9	CD177	113	67	121	143	96	63	75	47	65	89	90	66	226	96	57	128	106	99	12	30	104,8	93,3
10	GAL4	13	223	56	104	72	35	272	166	52	93	109	43	108	219	116	87	80	209	213	188	174,6	143,0
11	GCNT3	127	81	67	154	20	113	72	81	78	73	63	91	83	95	75	34	57	58	79	132	110,9	96,2
12	GPA33	188	99	56	40	89	59	32	66	49	103	82	49	79	122	20	36	69	86	80	112	71,9	97,1
13	Meprin A	7	79	102	55	93	69	129	88	22	62	156	136	15	128	138	136	48	124	160	177	133,5	128,2
14	MGC4172	135	66	61	77	184	82	157	113	13	106	85	106	31	83	92	136	0	78	82	103	121,9	89,3
15	PIGY	186	53	4	50	48	152	72	135	15	89	69	212	59	101	79	96	39	87	60	65	117,9	53,7
16	REG4	116	184	73	115	29	109	150	122	15	109	110	136	36	66	59	60	1	112	66	66	89,8	93,5

### Creation of Method for Immuno-sorption of CRC-exosomes and Quantitative Analysis of Tissue-Specific EVs in Plasma

Quantitative analysis (or at least detection) of tissue-specific EVs can be based on the technology of their specific isolation. To solve this problem, we created immuno-particles consisting of super-paramagnetic micro-spheres (1 μm) whose surface is "decorated" with anti-bodies to "potential" markers: CLRN3, GAL4, and/or Meprin A. The interaction of particles with antibodies was carried out due to the high affinity bond biotin-streptavidin (Fig.6A). During incubation of such immune-particles with EVs isolated from plasma, selective fixation of vesicles whose membrane contains a marker protein occurs (Fig.6B). Then the "fixed" vesicles are labeled with antibodies to any of the "classical" exosomal markers (in our case, CD63),

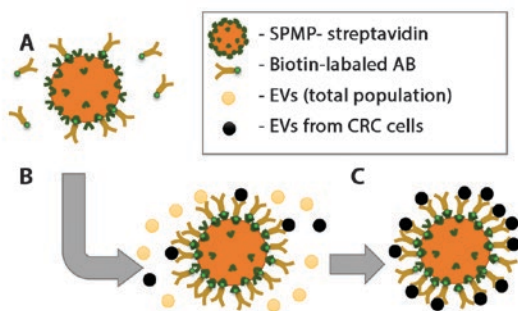
and the quantitative evaluation of the "fixed" vesicles is performed by flow cytometry (Fig.6B).

The created technology was first tested to exclude false positive results due to non-specific interaction of antibodies. We then analyzed ten plasma samples from five patients with a verified diagnosis of CRC and five donors. An example of the result of quantitative evaluation of Meprin A (+) EVs in six plasma samples (3 patients with CRC and 3 donors) is shown in Figure 7. Thus, an increased content of vesicles is clearly detected in the plasma of patients whose membrane contains the tissue - specific marker Meprin A.

The average results of the analysis of three markers selected during the preliminary stages of the work, and the epithelial "marker" EpCAM in ten samples are presented in table 4.

The concentration of EVs, the membrane of which





**Figure 6.** Scheme of creation and use of immuno-particles for isolation of a specific fraction of EVs

*A. Fixation of antibodies (AB) to superparamagnetic particles (SPMP) through the interaction of biotin with AB and streptavidin with SPMP*

*B. Incubation of immuno-particles (SPMP- AB complexes) with EVs plasma and interaction of immune-particles with a fraction of specific vesicles.*

*C. Separation of the SPMP-AB-EVs complex containing specific EVs from plasma vesicles. The resulting complexes can be used for subsequent analysis of the EVs fraction*

contains tissue-specific markers (CLRN3, GAL4, Meprin A) is significantly increased in the plasma of patients. The results confirm the hypothesis of possible diagnostic significance of tissue-specific vesicular markers. The strategy used for selecting and validating “potential” markers can be used in further research.

## DISCUSSION

It is recognized that extracellular nano-vesicles secreted by CRC cells play a significant role in the development of the disease [21]. EVs participate in the process of invasive growth of the primary tumor by modifying the stroma structure, changing the morphology of fibroblasts, and stimulating pathological vascularization. Studies of the systemic effects of EVs secreted by tumor cells are of great practical interest. For example, it has been shown in experimental studies that the efficiency of metastatic dissemination of CRC cells through the mesenteric vascular system to the liver is regulated by the EVs. Among the possible mechanisms of such regulation, the effect of

stimulating the differentiation of monocytes [22] and cells expressing the CXCR4 receptor is described [23]. So, against the background of many studies describing the biological effects of EVs secreted by CRC cells, it has not yet been possible to isolate them from plasma and compare their structural and functional features. Specific biochemical characteristics are not yet known that would allow physically separating this fraction of EVs from the total composition of plasma vesicles and elucidating the molecular mechanisms of the observed pathological effects. This situation reduces the practical value of the results of many experimental studies.

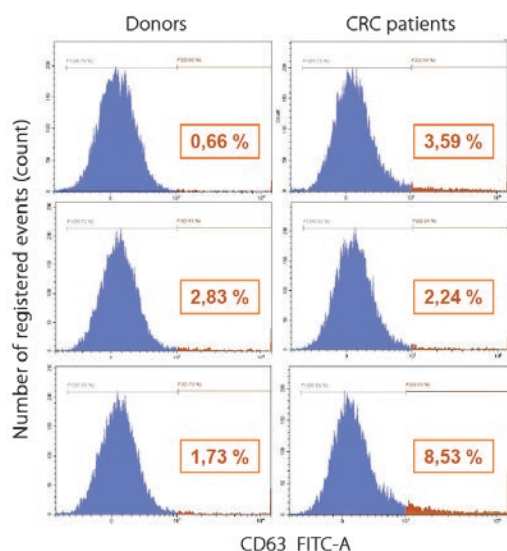
In addition, the development of diagnostic technologies based on the analysis of EVs plasma is not a promising direction, if we take into account the fact that only a minor fraction of the analyzed vesicles has diagnostic value.

Previously, we conducted a study to assess the diagnostic potential of exosomal microRNA [24]. As part of this work, the “determination” of the fraction of vesicles secreted by CRC cells was performed by comparing the plasma of patients before and after tumor removal. This approach was based on the assumption that after removal of the tumor, the fraction of vesicles secreted by the cells of this tumor in the plasma will decrease. Accordingly, differences in the profile of vesicular microRNA in the material obtained before and after surgery should reflect the composition of vesicles of tumor origin. This approach, supplemented by the results validation stage, made it possible to identify two molecules, miR-223 and miR-181A, whose combined analysis had a high diagnostic potential. However, these results did not solve the problem of “identifying” a diagnostically significant fraction of EVs. The task of physical isolation of vesicles secreted by CRC cells remained obvious, which would expand the panel of marker microRNA and improve the reliability of the method as a whole. To solve this problem, we assumed that vesicles secreted by cells of high- or medium-differentiated adenocarcinoma may have tissue-specific proteins in the membrane. To confirm this hypothesis, 12 candidate molecules were selected that meet a number of criteria: exclusive or predominant expression in intestinal epithelial cells, membrane localization, and proven expression in the composition of EVs. After analyzing the biopsy

**Table 4.** Results of analysis of tissue-specific EVs in plasma of patients with CRC and healthy donors using immuno-particles by flow cytometry. The average data for 5 samples is presented. The significance of the difference between the group of patients and donors was assessed using the Mann-Whitney test

Markers	CLRN3	GAL4	Meprin A	EpCAM
CRC (patients), n=5	1,7	2,5	4,8	6,2
Control (donors), n=5	0,3	0,9	1,7	11,6
Significance	**	*	**	NS





**Figure 7.** Representative results of quantitative evaluation of Meprin A –positive EVs in the total population of plasma vesicles of healthy donors and patients with CRC. Vesicles were isolated using immuno-particles carrying antibodies to Meprin A. After incubation with plasma vesicles and washing, % Meprin A (+) bound EVs were labeled with antibodies to the “exosomal” marker CD63-FITC. Highlighted values are: % Meprin A (+) EVs

material from the normal colorectal epithelium, cell lines derived from intestinal adenocarcinomas and vesicles secreted by these cells in vitro, the candidate list narrowed to 3 molecules: CLRN3, GAL4, Meprin A. Quantitative evaluation of EVs with one of these markers in the plasma of patients with CRC and healthy donors showed the validity of our assumption. A similar study has recently been done by a group of Korean researchers [25]. This work solved a similar problem, but had a different design: the analysis of proteins in the composition of EVs secreted by cells of two lines (HT29 and HCT-116) was carried out by mass spectrometry, then the candidate molecules were selected from the list of identified molecules that met the criteria used in our work. Finally, the concentrations of selected molecules in the EVs of patients with CCR and healthy donors were compared. The result of the study was the identification of a new vesicular marker of CRC – tetraspanin TSPAN1. According to The Protein Atlas database [16], the expression of

this molecule is restricted to the intestines and urinary system, i.e. TSPAN1 is also a tissue-specific marker of EVs secreted by CRC cells.

## CONCLUSION

The results of the study and the work of Korean colleagues confirm a number of conclusions: 1. CRC cells secrete EVs that include tissue-specific proteins. 2. Quantitative analysis of vesicles that include such proteins has diagnostic potential. 3. Immuno-sorption methods can be used for isolation (or enrichment) and subsequent analysis of the fraction of EVs secreted by CRC cells. Further study in this direction is necessary to expand the list of EVs “markers” secreted by CRC cells (1), optimize the technology for specific isolation of these vesicles (2), and apply methods for subsequent qualitative analysis of this specific vesicular fraction. The analysis of microRNA from the fraction of tissue-specific EVs seems to be the most promising. Achieving these objectives will be the basis for creating an effective method for non-invasive diagnosis of CRC.

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Nazarova I.V., Malek A.V.

Collection and processing of the material: Nazarova I.V., Kotova Z.S., Semiglazova T.Yu., Sluzhev M.A., Semiglazov V.V., Gogolev A.B., Artem’eva A.S., Rybakov E.G.

Statistical processing: Nazarova I.V., Slyusarenko M.A.

Writing of the text: Nazarova I.V., Malek A.V.

Editing: Nikiforova N.S., Sidina E.I.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

ORCID

Nazarova I.V. 0000-0002-6812-3088

Nikiforova N.S. 0000-0001-7464-4237

Sidina E.I. 0000-0003-4174-2839

Slyusarenko M.A. 0000-0002-3677-1558

Semiglazova T.Yu. 0000-0002-4305-6691

Sluzhev M.A. 0000-0002-6346-1029

Gogolev A.B. 0000-0001-9885-1177

Artemyeva A.S. 0000-0002-2948-397X

Rybakov E.G. 0000-0002-3919-9067

Malek A.V. 0000-0001-5334-7292

## REFERENCES

1. Puzanov D.P., Polovinkin V.V., Puzanova I.A. Colorectal cancer screening. current techniques and recommendations review. *Innovative medicine of Kuban*. 2018; no.1, pp.58-64. (in Russ.).
2. Bénard F, Barkun AN, Martel F, von Renteln D. Systematic

- review of colorectal cancer screening guidelines for average-risk adults: Summarizing the current global recommendations. *World J Gastroenterol*. 2018; 7:124–138.

3. Stanciu J, Tariman J. Liquid Biopsy: A Tool for the Diagnostic and

- Prognostic Evaluation of Cancers. *Clin J Oncol Nurs*. 2020; 24:19-21.
4. Brahmer A. et al. Platelets, endothelial cells and leukocytes contribute to the exercise-triggered release of extracellular vesicles into the circulation. *J Extracell Vesicles*. 2019 May 28; 8(1):1615820. DOI: 10.1080/20013078.2019.1615820
  5. Larssen P. et al. Tracing Cellular Origin of Human Exosomes Using Multiplex Proximity Extension Assays. *Mol Cell Proteomics*. 2017; 16:1547–1547.
  6. Kobayashi M. et al. A Pilot Trial to Quantify Plasma Exosomes in Colorectal Cancer Screening from the International Collaborative Study between Chile and Japan. *Digestion*. 2018; 98:270–274.
  7. Wang L, Duan W, Yan S, Xie Y. et al. Circulating long non-coding RNA colon cancer-associated transcript 2 protected by exosome as a potential biomarker for colorectal cancer. *Biomed Pharmac other*. 2019 May 14; 113:108758. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108758
  8. Ogata-Kawata H. et al. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Colon Cancer. *PLoS One*. 9, 2014; e92921.
  9. Zambalova E.A. et al. Exosomal proteases in colorectal cancer. *Advances in Molecular Oncology*. 2018; no.5(4), pp.117-126. (In Russ.).
  10. Lewis JM. et al. Integrated Analysis of Exosomal Protein Biomarkers on Alternating Current Electrokinetic Chips Enables Rapid Detection of Pancreatic Cancer in Patient Blood. *ACS Nano*. 2018; 12:3311–3320.
  11. Zhang Y, Mi X, Tan X. et al. Recent Progress on Liquid Biopsy Analysis using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Theranostics*. 2019; 9:491–525.
  12. Santasusagna S. et al. Proteomic Analysis of Liquid Biopsy from Tumor-Draining Vein Indicates that High Expression of Exosomal ECM1 Is Associated with Relapse in Stage I-III Colon Cancer. *Transl. Oncol*. 2018; 11:715–721.
  13. Theodoraki M-N, Matsumoto A, Beccard I, et al. CD44v3 protein-carrying tumor-derived exosomes in HNSCC patients' 3plasma as potential noninvasive biomarkers of disease activity. *Oncoimmunology*. 2020; 9:1747732.
  14. Ferrone S, Whiteside TL. Targeting CSPG4 for isolation of melanoma cell-derived exosomes from body fluids. *HNO*. 2020; 68:100-105.
  15. Théry C, Amigorena S, Raposo G. et al. Isolation and Characterization of Exosomes from Cell Culture Supernatants and Biological Fluids. *Curr Protoc Cell Biol*. 2006; 30, 3.22.1-3.22.29.
  16. www.proteinatlas.org. The Human Protein Atlas.
  17. www.uniprot.org. UniProt Consortium.
  18. www.exocarta.org. ExoCarta.
  19. Linnekamp JF. et al. Consensus molecular subtypes of colorectal cancer are recapitulated in in vitro and in vivo models. *Cell Death Differ*. 2018; 25:616–633.
  20. Théry C. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018; 23(7):1535750. DOI:10.1080/20013078.2018.1535750
  21. Mannavola F. et al. Revisiting the Role of Exosomes in Colorectal Cancer: Where Are We Now? *Front Oncol*. 2019 Jun 19; 9:521. DOI: 10.3389/fonc.2019.00521. eCollection 2019.
  22. Takano Y. et al. Circulating exosomal microRNA-203 is associated with metastasis possibly via inducing tumor-associated macrophages in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8:78598–78613.
  23. WANG X. et al. Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer liver metastasis. *Oncol Rep*. 2015; 33:2445–2453.
  24. Samsonov R.B. et al. Diagnostic value of exosomal miRNAs for colorectal cancer. *Koloproktologia*. 2018; no.2(64), pp.25-31. (In Russ.).
  25. Lee C-H, Im E-J, Moon P-G et al. Discovery of a diagnostic biomarker for colon cancer through proteomic profiling of small extracellular vesicles. *BMC Cancer*. 2018; 18:1058.

# ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С КОНТРАСТНЫМ УСИЛЕНИЕМ В ДИАГНОСТИКЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ПРЯМОЙ КИШКИ

Богданова Е.М., Орлова Л.П., Трубачева Ю.Л., Хомяков Е.А., Рыбаков Е.Г.

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России  
(ул. Саяма Адилы, д. 2, г.Москва, 123423, Россия)

**ЦЕЛЬ:** оценка диагностических возможностей ультразвукового исследования (УЗИ) с контрастным усилением в диагностике эпителиальных опухолей прямой кишки.

**ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:** в исследование включено 15 пациентов, всем проведены эндоректальное УЗИ и трансвагинальное УЗИ с контрастным усилением. Все больные оперированы.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** при морфологическом исследовании в 9 случаях выявлены аденомы, в 6 случаях – аденокарциномы различной глубины инвазии. При анализе характера контрастирования опухолей были получены статистически значимые различия времени наступления контрастирования, при этом контрастное усиление аденокарцином наступало достоверно быстрее ( $p=0,036$ ). Установлены обратные корреляционные связи пиковой интенсивности контрастирования гипоэнхэнсированных зон в аденокарциноме с индексами T ( $r_{xy}=-0,781$ ;  $p=0,001$ ) и N ( $r_{xy}=-0,519$ ;  $p=0,047$ ) и прямая корреляционная связь со степенью дифференцировки опухоли ( $r_{xy}=0,742$ ;  $p=0,002$ ). Также выявлена обратная связь времени начала контрастирования с индексом T ( $r_{xy}=-0,552$ ;  $p=0,033$ ).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** ультразвуковое исследование с контрастным усилением представляет собой метод визуализации, позволяющий в режиме реального времени проводить качественную и количественную оценку перфузии опухолевой ткани. Метод не является стандартизованным, однако, может стать полезным неинвазивным методом оценки кровоснабжения опухолей прямой кишки на предоперационном этапе, а также имеет потенциал в оценке факторов риска лимфогенного метастазирования.

**[Ключевые слова: ультразвуковое исследование с контрастным усилением, рак прямой кишки, аденома прямой кишки]**

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Богданова Е.М., Орлова Л.П., Трубачева Ю.Л., Хомяков Е.А., Рыбаков Е.Г. Первый опыт применения ультразвукового исследования с контрастным усилением в диагностике эпителиальных опухолей прямой кишки. *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с.57-70. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-57-70>

## THE FIRST EXPERIENCE OF CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND IN EPITHELIAL RECTAL TUMORS

Evgeniya M.Bogdanova, Larisa P.Orlova, Yuliya L.Trubacheva, Evgeniy A.Khomyakov, Evgeniy G.Rybakov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**AIM:** to evaluate the diagnostic capabilities of contrast-enhanced ultrasound for the diagnostics of epithelial rectal tumors.

**PATIENTS AND METHODS:** the study included 15 patients, who underwent endorectal ultrasound and transvaginal contrast-enhanced ultrasound. All the patients underwent surgery.

**RESULTS:** morphology revealed adenomas in 9 cases, and adenocarcinomas with different invasion depth in 6 cases.

When analyzing the tumors contrast, significant differences in arrival time of contrasting between adenomas and adenocarcinomas were obtained ( $p = 0.041$ ), and the contrast enhancement of adenocarcinomas was faster ( $p = 0.036$ ).

Negative correlations of peak intensity of contrast enhancement of hypoenhanced zones in adenocarcinoma with indices T ( $r_{xy} = -0.781$ ;  $p = 0.001$ ) and N ( $r_{xy} = -0.519$ ;  $p = 0.047$ ) and a positive correlation with the tumor differentiation degree ( $r_{xy} = 0.742$ ;  $p = 0.002$ ) were established. Also, the negative correlation of the arrival time with the index T ( $r_{xy} = -0.552$ ;  $p = 0.033$ ) was found.

**CONCLUSION:** contrast-enhanced ultrasound is an imaging technique that allows real-time qualitative and quantitative assessment of tumor tissue perfusion. The method is not standardized, but it can be a useful non-invasive method for assessing the blood supply of rectal tumors at the preoperative stage, and also has the potential to assess risk factors for lymphogenic metastasis.

[Key words: contrast-enhanced ultrasound, rectal cancer, rectal adenoma]

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Bogdanova E.M., Orlova L.P., Trubacheva Yu.L., Khomyakov E.A., Rybakov E.G. The first experience of contrast-enhanced ultrasound in epithelial rectal tumors. *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 57-70. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-57-70>

Адрес для переписки: Богданова Евгения Михайловна, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, ул. Саяма Адилья, д.2, Москва, 123423, Россия; e-mail: [bogdanova.zh.m@gmail.com](mailto:bogdanova.zh.m@gmail.com)

Address for correspondence: Bogdanova E.M., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: [bogdanova.zh.m@gmail.com](mailto:bogdanova.zh.m@gmail.com)

Дата поступления – 22.07.2020  
Received – 22.07.2020

После доработки – 17.09.2020  
Revised – 17.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020  
Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Ультразвуковое исследование с контрастным усилением (КУУЗИ) является новым методом оценки васкуляризации опухолей различной локализации, основанным на применении препаратов стабилизированных микропузырьков газа и зависимости интенсивности изображения от концентрации пузырьков в сосудистой сети.

Первым официально зарегистрированным в 1982 году контрастным веществом стал препарат Echovist (Schering, Берлин, Германия), имевший невысокую стабильность микропузырьков и применявшийся, преимущественно, в эхокардиографии. В дальнейшем были разработаны и внедрены в практику препараты с более длительным периодом действия, применяемые теперь и для исследования органов брюшной полости и малого таза, молочной и щитовидной желез, а также используемые при исследовании трансплантатов и при абдоминальных травмах [1]. Кроме того, имеются единичные сообщения о применении КУУЗИ в диагностике новообразований печени, поджелудочной и молочной желез, а также других органов [2-5]. Наиболее широко в настоящее время применяется контрастный препарат второго поколения SonoVue® (Bracco, Милан, Италия), состоящий из перфторуглеродного газа (гексафторида серы), стабилизированного поверхностно-активными веществами. Микропузырьки газа образуются путем смешивания физиологического раствора с лиофилизатом и остаются стабильными во флаконе в течение нескольких часов. Газовой фракцией во флаконе является гексафторид серы, а лиофилизированный порошок изготовлен из комбинации фармацевтически качественного полиэтиленгликоля, фосфолипидов и пальмитиновой кислоты. Благодаря данной комбинации, препарат обладает низкой частотой возникновения побочных эффектов [6]. Разработка препаратов с

более стабильной мембраной микропузырьков продолжается [7].

Применение контрастных препаратов в диагностике колоректального рака до настоящего времени не проводилась.

## ЦЕЛЬ

Целью нашего исследования является оценка диагностических возможностей ультразвукового исследования с контрастным усилением в диагностике эпителиальных опухолей прямой кишки.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В пилотное исследование включено 15 пациенток со средним возрастом  $65 \pm 11$  (M  $\pm$   $\sigma$ ) лет с гистологически подтвержденными железистыми опухолями прямой кишки.

У 3/15 (20%) пациентов опухоль локализовалась в нижне-ампулярном отделе прямой кишки, у 9/15 (60%) – в средне-ампулярном и у 3/15 (20%) – в верхне-ампулярном отделах прямой кишки. Среднее расстояние опухоли от наружного края анального канала (M $\pm$ SD) составило  $9,6 \pm 4,1$  см, а средний размер опухоли (M $\pm$ SD) –  $44 \pm 15$  мм в диаметре.

Всем пациенткам на предоперационном этапе проведено мультипараметрическое эндоректальное ультразвуковое исследование (ЭРУЗИ) и трансвагинальное ультразвуковое исследование (УЗИ) с контрастным усилением. Критериями исключения были рецидивный характер новообразования и проведенная на предоперационном этапе химиолучевая терапия. Все пациенты дали письменное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных.

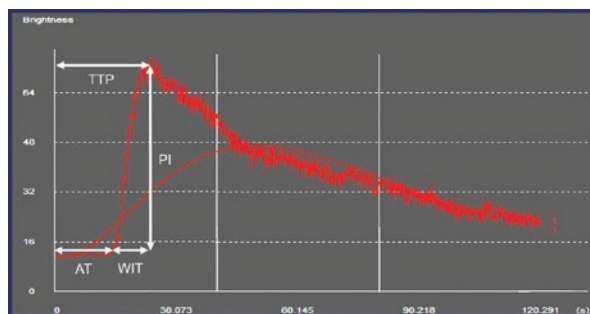
УЗИ проводили на приборе HiVision Preirus (Hitachi,



Япония) с предустановленным программным обеспечением для исследования с контрастным усилением. ЭРУЗИ выполняли при помощи мультисекторного бипланового ректального датчика с частотой 5-10 МГц, трансвагинальное УЗИ - с помощью внутривагинального миниинвазивного датчика с частотой 4-8 МГц. Предварительно проводили очищение просвета кишки малообъемными клизмами.

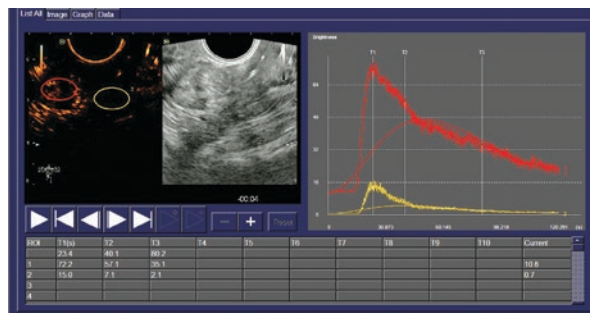
Первым этапом выполняли мультипараметрическое ЭРУЗИ, включавшее оценку опухоли в В-режиме, энергетическую доплерографию и компрессионную эластографию. На данном этапе оценивали локализацию, структуру и форму опухоли, глубину инвазии, сохранность ангиоархитектоники, а также качественную и количественную оценку жесткости ткани новообразования.

Следующим этапом проводили трансвагинальное ультразвуковое исследование опухоли с внутривенным контрастированием препаратом лиофилизата гексафторидасеры. Через канюлю в кубитальную вену болюсно вводили 2,4 мл контрастного вещества SonoVue® (Bracco, Милан, Италия), затем вводили 10 мл физиологического раствора. Настройки аппаратов были идентичны для каждого пациента с частотой кадров 15 в секунду и механическим индексом 0,07. Проводили запись двух видеопетель по 2 минуты каждая: запись периодов накопления и вымывания контрастного препарата и запись исследования с последовательным включением режимов «вспышка» («Flash») и «максимальное усиление» («IMAX»). Полученные видеопетли сохраняли на жестком диске прибора для последующего качественного и количественного анализа контрастирования опухоли по окончании исследования. Время замеряли от момента инъекции препарата; контрастирование (усиление сигнала) наблюдали в реальном времени. При анализе периодов накопления и вымывания контрастного препарата в ручном режиме проводили выделение областей интереса (ROI, «region of interest») для последующего построения кривой «время-интенсивность» (TIC, «time-intensity curve») и расчёта параметров контрастирования опухоли: максимальная интенсивность (PI, «peak intensity»), время до начала контрастирования (AT, «arrival time»), время до пика (TTP, «time to peak»), время накопления (WIT, «wash-in-time») (Рис.1,2). При анализе записи исследования с применением режимов «Flash» и «IMAX» выполняли оценку контрастирования опухоли по степени (гипо- или гиперконтрастное усиление) и гомогенности (гомогенное или гетерогенное контрастное усиление). Режим «Flash» вызывает одномоментное разрушение микропузырьков и последующее повторное распространение контрастного препарата по сосудам, что впоследствии использовалось для применения режима максималь-



**Рисунок 1.** Кривая зависимости интенсивности контрастирования от времени (TIC, «time-intensity curve») в области интереса (ROI, «region of interest») с учетом параметров: максимальная интенсивность (PI, «peak intensity»), время до начала контрастирования (AT, «arrival time»), время до пика контрастирования (TTP, «time to peak»), время накопления контрастного препарата (WIT, «wash-in-time»).

**Figure 1.** Time-intensity curve (TIC) from region of interest (ROI) within the tumor and the ultrasound TIC parameters. Peak intensity (PI), Arrival time (AT), time to peak enhancement (TTP), wash-in-time (WIT)



**Рисунок 2.** Эхограмма аденокарциномы прямой кишки. Кривые «время-интенсивность» контрастирования в выбранных областях интереса: ROI1 выделена красной фигурой, ROI2 выделена желтой фигурой. В таблице указаны значения контрастного усиления в различные моменты исследования – максимальная интенсивность на 23,4 секунде (PIROI1 72,2dB, PIROI2 15,0dB)

**Figure 2.** Echogram of rectal adenocarcinoma. Time-intensity curves of the selected contrast zones: ROI 1 is highlighted in red, and ROI 2 is highlighted in yellow. The table shows the values of enhancement at various points of the study – the peak intensity at 23.4 seconds (PI ROI1 72.2 dB, PI ROI2 15.0 dB)

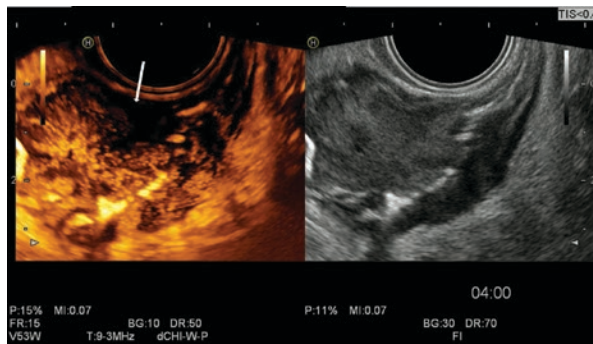
ного усиления. «IMAX» режим дает возможность суммирования сигналов от контрастного препарата в течение временного промежутка, пока включен данный режим.

Все больные оперированы в зависимости от местной распространенности опухоли: в 7/15 (46,7%) случаях проведены радикальные абдоминальные операции в объеме низкой передней резекции прямой кишки, восьми пациентам (53,3%) выполнены органосохраняющие операции - диссекция в подслизистом слое или трансанальное эндомиохирургическое удаление.



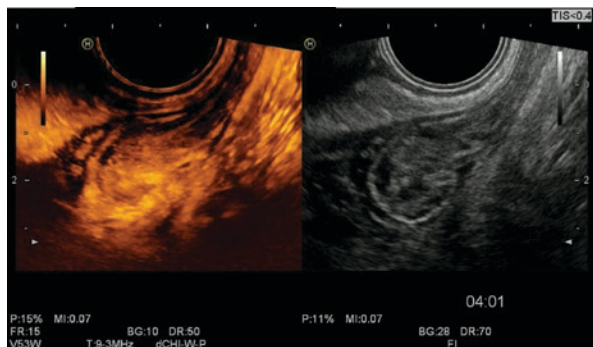
Статистическую обработку данных проводили с использованием программ IBM SPSS v.23.0. Для сравнения бинарных параметров применяли двусторонний точный критерий Фишера, для сравнения медиан U-критерий Манна-Уитни. С целью изучения связи между параметрами, представленными количественными данными, проводился расчет коэффициента корреляции Спирмена. Статистически значимыми полученными различия признавались при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ



**Рисунок 3.** Эхограмма аденокарциномы прямой кишки при КУУЗИ в режиме «ИМАХ». Отмечено гетерогенное контрастирование тканей с наличием центральной гипо-контрастной зоны (стрелка) и гиперконтрастным усилением периферических областей опухоли

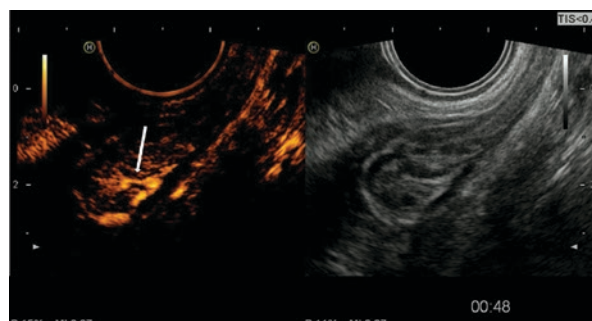
**Figure 3.** Echogram of rectal adenocarcinoma with contrast-enhanced ultrasound in IMAX mode. Heterogeneous contrast was observed with the hypoenhanced central zone (arrow) and the hyperenhanced peripheral areas of the tumor



**Рисунок 4.** Эхограмма аденомы прямой кишки при КУУЗИ в режиме «ИМАХ», отмечается гомогенное гиперконтрастное усиление опухоли

**Figure 4.** Echogram of rectal adenoma with contrast-enhanced ultrasound in IMAX mode, hypercontractive homogeneous enhancement of the tumor marked

В пилотное исследование включено 15 пациенток, ограничения по полу были связаны с техническим обеспечением и возможностью проведения УЗИ с



**Рисунок 5.** Эхограмма аденомы прямой кишки при КУУЗИ. Стрелкой отмечен контрастированный центральный сосуд в ткани опухоли

**Figure 5.** Echogram of rectal adenoma with contrast-enhanced ultrasound. The arrow marks the contrasted central vessel in the tumor tissue

контрастным усилением только при помощи трансвагинального миниконвексного датчика.

При предоперационной биопсии в 9 случаях выявлены признаки аденом, а в 6 случаях – признаки атипичи железистых клеток, характерные для аденокарцином. При окончательном патоморфологическом исследовании операционных препаратов у 9/15 (60%) пациенток выявлены аденомы, которые имели умеренную (6/9 (66,7%) случаев) или тяжелую (3/9 (33,3%) случаев) дисплазию эпителия.

У 6/15 (40%) пациенток диагностированы аденокарциномы, имевшие в 5/6 (83,3%) случаях умеренную дифференцировку и только в 1(16,7%) случае – высокую дифференцировку. В 2/6 (33,3%) случаях при гистологическом исследовании препаратов было отмечено наличие участков некроза опухоли.

При мультипараметрическом ЭРУЗИ в 11/15 (73,3%) случаях было вынесено заключение о наличии злокачественной опухоли, при окончательном патоморфологическом исследовании наличие аденокарциномы подтверждено в 6/15 (40%) случаях. Таким образом, результаты предоперационного УЗИ и послеоперационного патоморфологического исследования не совпали в 33,3% случаев.

При анализе характера контрастирования опухолей в режиме максимального усиления 5(83,3%) из шести аденокарцином имели гетерогенное контрастирование с наличием гиперконтрастной периферической зоны и гипо-контрастной зоны различного размера, расположенной центрально (Рис.3). В 1/6 (16,7%) случае опухоль имела гомогенное контрастирование. Напротив, у 7(77,8%) из 9 пациенток с аденомами опухоль имела гомогенное гиперконтрастное изображение, в 2/9 (22,2%) случаях было получено гетерогенное контрастирование с наличием гипо-контрастной зоны малого размера в области нижнего полюса (Рис.4). При сравне-

**Таблица 1.** Количественные показатели контрастирования опухоли в исследуемых группах.**Table 1.** Quantitative parameters of contrast-enhanced ultrasound in the study groups.

параметры КУУЗИ	аденокарцинома n = 6	аденома n = 9	p
	Me (Q1:Q3)*	Me(Q1:Q3)*	
пиковая интенсивность области интереса 1, dB	66,3 (39,2:72,1)	47,0 (35,0:65,9)	0,6
пиковая интенсивность области интереса 2, dB	14,9 (9,9:15,2)		<0,001
время до начала контрастирования, s	15,0 (14,3:18,0)	23,0 (22,0:23,0)	0,04
время накопления, s	15,2 (12,4:17,4)	14,0 (10,0:24,0)	0,9
время до пика, s	29,7 (25,6:35,4)	39,0 (33,0:47,0)	0,1

\*Me – медиана, Q1-Q3 – 1 и 3 квантили

**Таблица 2.** Корреляционный анализ параметров кривой «время-интенсивность» со степенью дифференцировки опухоли и стадиями T и N.**Table 2.** Correlations time-intensity curve parameters with histologic grade, T and N stage.

Параметры КУУЗИ	степень дифференцировки		pT		pN	
	p*	p	p*	p	p*	p
пиковая интенсивность области интереса 1, dB	- 0,179	0,522	0,097	0,731	0,440	0,101
пиковая интенсивность области интереса 2, dB	0,742	0,002	- 0,781	0,001	- 0,519	0,047
время до начала контрастирования, s	0,358	0,190	- 0,552	0,033	- 0,480	0,070
время накопления, s	0,160	0,570	- 0,166	0,554	- 0,228	0,414
время до пика, s	0,413	0,126	- 0,501	0,057	- 0,445	0,097

p\* – коэффициент корреляции Спирмена

нии аденом и аденокарцином в зависимости от паттерна контрастирования были получены статистически значимые различия ( $p=0,041$ ). В 7/9 аденомах (77,8%) визуализирован гиперконтрастный центральный сосуд, хорошо дифференцируемый на фоне окружающей гиперконтрастной ткани опухоли (Рис.5).

Среди аденокарцином ни в одном случае данного паттерна контрастирования отмечено не было. При сопоставлении полученных данных были выявлены статистически значимые различия ( $p=0,007$ ).

При анализе количественных показателей контрастного усиления в силу выраженной гетерогенности контрастирования аденокарцином измерение пиковой интенсивности (PI) для последних проводилось дважды - в периферической гиперконтрастной зоне (область интереса 1) и дополнительно - в центральной гипоконтрастной зоне (область интереса 2). Полученные данные представлены в таблице 1. При сравнении групп по количественным параметрам были установлены статистически значимые различия при сопоставлении уровня пиковой интенсивности контрастирования аденом с аналогичным показателем в дополнительной области интереса аденокарцином ( $p < 0,001$ ).

Также были выявлены достоверные различия групп

при их сравнении по показателю AT ( $p=0,036$ ). Контрастирование аденокарцином наступало быстрее, чем контрастирование аденом (медианы составили 15 и 23 секунды, соответственно). Достоверных различий по показателям WIT и TTP между аденомами и аденокарциномами получено не было, однако отсутствие статистической значимости, вероятно, обусловлено малой выборкой больных.

Были установлены статистически значимые обратные корреляционные связи пиковой интенсивности контрастирования в дополнительной зоне интереса с индексами T ( $p=-0,781$ ;  $p=0,001$ ) и N ( $p=-0,519$ ;  $p=0,047$ ) и прямая корреляционная связь со степенью дифференцировки опухоли ( $p=0,742$ ;  $p=0,002$ ) (Табл.2). Чем значительнее глубина инвазии и ниже степень дифференцировки аденокарцином, тем более скудное контрастирование имеют центральные гипоконтрастные зоны опухоли.

Также выявлена статистически значимая обратная связь времени начала контрастирования опухоли (AT) с индексом T ( $p=-0,552$ ;  $p=0,033$ ), то есть, чем значительнее глубина инвазии, тем раньше наступает контрастирование опухолевой ткани. Достоверных корреляционных связей по другим параметрам получено не было.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ангиогенез является критическим процессом роста и метастазирования опухоли, возникающим в результате взаимодействия многочисленных факторов роста и сигнальных молекул, которые приводят к активации эндотелиальных клеток и образованию новых сосудов.

В настоящее время стандартным методом количественной оценки ангиогенеза является иммунофлуоресцентный анализ внутриопухолевой плотности микрососудов, который определяет количество сосудов на единицу объема.

Позднее, с применением ультразвукового исследования с контрастным усилением стала возможна количественная оценка перфузии, основанная на анализе кривых «время-интенсивность» (ТИС, «time-intensity curve»), которые отображают изменения интенсивности сигнала интересующей области во времени [8]. Методологически ультразвуковое исследование с контрастным усилением может выполняться несколькими способами:

1. После болюсного введения контрастного препарата проводится видеозапись изображения исследуемого объекта в одной плоскости в течение всего периода контрастирования. Далее выполняется анализ параметров кривой «время-интенсивность» (ТИС, «time-intensity curve») одной области интереса [9].

2. Техника проведения контрастирования аналогична первой, однако, кроме основной, выделяется вторая область интереса, выставленная на «контрольную» ткань для последующего сравнения количественных параметров [10].

3. Внутривенное введение препарата с анализом пополнения контрастным веществом зоны интереса: препарат вводится с помощью помпы или капельно в течение 5-20 минут. Сначала контрастирование исследуемого объекта отображается при исходных настройках прибора с низким значением механического индекса (MI, «mechanical index»), затем MI кратковременно увеличивается, вызывая разрушение пузырьков (режим «Flash»). Сразу после этого уровень MI возвращается на исходный уровень для наблюдения пополнения области интереса контрастным препаратом [11].

Наиболее информативными нам представились исследования изображения объекта в одной плоскости в течение периода контрастирования в комбинации с исследованием в режимах «Flash» и «IMAX». Первая часть исследования позволяет получить количественные показатели контрастирования, вторая – детально оценить её характер (получить качественные показатели).

Важно отметить, что метод не стандартизован, поскольку в настоящий момент имеются лишь еди-

ничные публикации о его применении в области диагностики рака прямой кишки. Наиболее часто в соответствующих исследованиях авторы изучают только наиболее контрастные зоны опухоли [12,13], анализ параметров контрастирования гипоконтрастных зон не проводился. В одноцентровом проспективном исследовании Lu M. и соавт., включившем 172 пациента с аденокарциномами и 45 пациентов с аденомами, были выполнены ЭРУЗИ с двойным контрастированием (внутрипросветное и внутривенное) [12]. Результаты исследования показали, что аденокарциномы имеют более быстрое наступление контрастирования и большую интенсивность контрастирования по сравнению с аденомами ( $p < 0,001$ ), что совпадает с полученными нами результатами и указывает на воспроизводимость исследования. Однако авторы интерпретировали гипоконтрастные участки как зоны некроза без указания процента выявленных при окончательном патоморфологическом исследовании некротических изменений. В нашем исследовании наличие центральных гипоконтрастных зон отмечено в 83,3% аденокарцином, в то время как зоны некроза при гистологическом исследовании подтверждены лишь в трети случаев, что может быть объяснено долей больных с распространенными опухолями.

Wang Y. и соавт. также анализировали результаты наиболее контрастных зон аденокарцином 66 пациентов и выявили прямую корреляционную связь пиковой интенсивности с микрососудистой плотностью ( $r = 0,295$ ,  $p = 0,016$ ) и обратную корреляционную связь со степенью дифференцировки ( $r = -0,264$ ,  $p = 0,007$ ) [13]. В ходе проведенного нами пилотного исследования проводился анализ показателей контрастирования как гиперконтрастных периферических зон, так и гипоконтрастных центральных областей опухоли. Были установлены обратные корреляционные связи пиковой интенсивности контрастирования в гипоконтрастных центральных областях (дополнительных областях интереса) с индексами T ( $p = -0,781$ ;  $p = 0,001$ ) и N ( $p = -0,519$ ;  $p = 0,047$ ) и прямая корреляционная связь со степенью дифференцировки опухоли ( $p = 0,742$ ;  $p = 0,002$ ). Отсутствие закономерностей для гиперконтрастных областей более вероятно обусловлено малой выборкой больных, что является основным ограничением нашего исследования.

Перспективным представляется сравнение параметров контрастирования с маркерами ангиогенеза опухоли, полученными из иммуногистохимического и генетического анализа. В исследовании Cârțână ET и соавт., включившем 42 пациента с аденокарциномами, обнаружены положительные корреляционные связи между параметрами кривой «время-интенсивность» и метастазированием в локорегионарные лимфатические узлы ( $p < 0,05$ ) [14]. Других корреляций между параметрами КУУЗИ и глубиной инвазии или

степень дифференцировки опухоли обнаружено было. Кроме того, не было обнаружено связи между рассчитанными параметрами кривой и экспрессией гена VEGFR1 или VEGFR2. Однако авторы выявили положительную корреляцию между параметрами WIT и TTP с плотностью сосудистой сети в опухоли, которая была оценена с помощью иммуногистохимического окрашивания CD31 с расчетом площади сосудов ( $r_{xy}=0,415$  и  $r_{xy}=0,421$ , соответственно,  $p<0,05$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ультразвуковое исследование с контрастным усилением представляет собой метод визуализации, позволяющий в режиме реального времени проводить качественную и количественную оценку перфузии опухолевой ткани. Метод не является стандартизованным, однако, может стать полезным неинвазивным методом оценки кровоснабжения опухолей прямой кишки на предоперационном этапе, а также имеет потенциал в оценке факторов риска лимфогенного метастазирования. Нам представляется перспективным дальнейшее изучение эффективности ультразвукового исследования с контрастным усилением в оценке васкуляризации опухолей, как фактора регионарного и отдаленного метастазирования, влияющего на тактику оператив-

ного лечения пациентов с опухолями прямой кишки.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн: *Богданова Е.М., Трубачева Ю.Л.*  
Сбор и обработка материала: *Богданова Е.М., Орлова Л.П.*

Стат. обработка: *Богданова Е.М., Хомяков Е.А.*  
Написание текста: *Богданова Е.М., Хомяков Е.А.*  
Редактирование: *Рыбаков Е.Г., Трубачева Ю.Л., Хомяков Е.А.*

## THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Bogdanova E.M., Trubacheva Yu.L.*

Collection and processing of the material: *Bogdanova E.M., Orlova L.P.*

Statistical processing: *Bogdanova E.M., Khomyakov E.A.*

Writing of the text: *Bogdanova E.M., Khomyakov E.A.*

Editing: *Rybakov E.G., Trubacheva Yu.L., Khomyakov E.A.*

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

### ORCID

Bogdanova E.M. 0000-0001-7734-3069

Trubacheva Yu.L. 0000-0002-8403-195X

Orlova L.P. 0000-0002-1525-4009

Khomyakov E.A. 0000-0002-3399-0608

Rybakov E.G. 0000-0002-3919-9067

## ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А.Ю., Капустин В.В., Васильева Ю.Н., Шумина Я.А. Сравнительная характеристика ультразвуковых контрастных препаратов (обзор литературы). *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2016; №4; с.73-81.
2. Сенча А.Н., Могутов М.С., Патрунов Ю.Н., Пеняева Э.И., и соавт. Ультразвуковое исследование с использованием контрастных препаратов. М.: Видар-М, 2015; 144 с.
3. Аскерова Н.Н., Степанова Ю.А., Тимина И.Е. Количественный анализ перфузии и анализ кривой времени интенсивности (ТИС-анализ) при ультразвуковом исследовании с контрастным усилением в дифференциальной диагностике очаговых образований поджелудочной железы. Первые результаты. *Медицинская визуализация*. 2017; т.21, №3, с.82-87.
4. Бикеев Ю.В., Сенча А.Н., Родионов В.В., Шубин Л.Б., и соавт. Качественный анализ ультразвукового исследования с применением контрастного препарата в дифференциальной диагностике узловых образований молочной железы. *Медицинская визуализация*. 2019; т.23, №1, с.87-96.
5. Ветшева Н.Н., Фисенко Е.П., Степанова Ю.А., Камалов Ю.Р., и соавт. Ультразвуковое исследование с контрастным усилением: терминология, технические и методологические аспекты. *Медицинская визуализация*. 2016; №4, с.132-140.
6. Аскерова Н.Н., Кармазановский Г.Г. Контрастное усиление изображения препаратом SonoVue®: пути совершенствования ультразвуковой диагностики очаговой патологии органов брюшной полости и забрюшинного пространства. *Медицинская визуализация*. 2015; №1; с.115-125.
7. DeLeon A, Perera R, Hernandez C, et al. Contrast Enhanced

Ultrasound Imaging by Nature-Inspired Ultrastable Echogenic Nanobubble. *Nanoscale*. 2019; DOI: 10.1039/C9NR04828F

8. Dietrich CF, Averkiou MA, Correas JM, et al. An EFSUMB introduction into Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound (DCE-US) for quantification of tumour perfusion. *Ultraschall Med*. 2012;33:344-51.

9. Peronneau P, Lassau N, Leguerney I, et al. Contrast ultrasonography: necessity of linear data processing for the quantification of tumor vascularization. *Ultraschall Med*. 2010;31:370-378. DOI: 10.1055/s-0029-1245450

10. Averkiou M, Lampaskis M, Kyriakopoulou K, et al. Quantification of tumor microvasculature with respiratory gated contrast enhanced ultrasound for monitoring therapy. *Ultrasound Med Biol*. 2010; 36:68-77. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.07.005

11. Williams R, Hudson JM, Lloyd BA, et al. Dynamic Microbubble Contrast enhanced US to Measure Tumor Response to Targeted Therapy: A Proposed Clinical Protocol with Results from Renal Cell Carcinoma Patients Receiving Antiangiogenic Therapy. *Radiology*. 2011;260:581-590. DOI: 10.1148/radiol.11101893

12. Lu M, Yan B, Song J, et al. Double-Contrast-Enhanced Sonography for Diagnosis of Rectal Lesions With Pathologic Correlation. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2014;33(4):575-583. DOI:10.7863/ultra.33.4.575

13. Wang Y, Li L, Wang YXJ, et al. Time-Intensity Curve Parameters in Rectal Cancer Measured Using Endorectal Ultrasonography with Sterile Coupling Gels Filling the Rectum: Correlations with Tumor Angiogenesis and Clinicopathological Features. *Bio Med Res Int*. 2014; 2014:587806. DOI:10.1155/2014/587806.

14. Cârțână ET, Gheonea DI, Cherciu IF, et al. Assessing tumor



angiogenesis in colorectal cancer by quantitative contrast-enhanced endoscopic ultrasound and molecular and immunohistochemical

analysis. *Endosc Ultrasound*. 2018;7:175-83. DOI: 10.4103/eus.eus\_7\_17

## REFERENCES

1. Vasiliev A.Yu., Kapustin V.V., Vasilieva Yu.N., Shumina Ya.A. Comparison of Ultrasound Contrast Agents (Literature Review). *Ultrasound and Functional Diagnostics*. 2016; no.4, pp.73-81. (In Russ.).
2. Sencha A.N., Mogutov M.S., Patrunev Yu.N. et al. Ultrasound examination using contrast agents. Moscow: Vidar-M. 2015; 144 p. (In Russ.).
3. Askerova N., Stepanova Y., Timina I. Quantitative perfusion analysis and time intensity curve analysis in differential diagnosis of solid pancreatic tumors by contrast-enhanced ultrasound. A pilot study. *Medical Vizualization*. 2017; v.21, no.3, pp. 82-87. (In Russ.).
4. Bikeev Yu.V., Sencha A.N., Rodionov V.V. et al. Qualitative analysis of ultrasound using a contrast agent in the differential diagnosis of palpable breast abnormalities. *Medical Vizualization*. 2019, no.1, pp. 87-96. (In Russ.).
5. Vetsheva N.N., Fisenko E.P., Stepanova Yu.A., Kamalov Yu.R., et al. Contrast Enhanced Ultrasound: Terminology, Technical and Methodological Aspects. *Medical Vizualization*. 2016; no.4, pp.132-140 (In Russ.).
6. Askerova N.N., Karmazanovsky G.G. Contrast-Enhanced Imaging with Utilization of SonoVue®: Ways of Improvement of Ultrasonic Diagnosis of Focal Lesions in Parenchymal Organs of Abdominal Cavity and Retroperitoneal. *Medical Vizualization*. 2015; no.1, pp.115-125. (In Russ.).
7. DeLeon A, Perera R, Hernandez C, et al. Contrast Enhanced Ultrasound Imaging by Nature-Inspired Ultrastable Echogenic Nanobubble. *Nanoscale*. 2019; DOI: 10.1039/C9NR04828F
8. Dietrich CF, Averkiou MA, Correas JM, et al. An EFSUMB introduction into Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound (DCE-US) for quantification of tumour perfusion. *Ultraschall Med*, 2012;33:344-51.
9. Peronneau P, Lassau N, Leguerney I, et al. Contrast ultrasonography: necessity of linear data processing for the quantification of tumor vascularization. *Ultraschall Med*. 2010;31:370-378. DOI: 10.1055/s-0029-1245450
10. Averkiou M, Lampaskis M, Kyriakopoulou K, et al. Quantification of tumor microvascularity with respiratory gated contrast enhanced ultrasound for monitoring therapy. *Ultrasound Med Biol*. 2010; 36:68-77. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.07.005
11. Williams R, Hudson JM, Lloyd BA, et al. Dynamic Microbubble Contrast enhanced US to Measure Tumor Response to Targeted Therapy: A Proposed Clinical Protocol with Results from Renal Cell Carcinoma Patients Receiving Antiangiogenic Therapy. *Radiology*. 2011;260:581-590. DOI: 10.1148/radiol.11101893
12. Lu M, Yan B, Song J, et al. Double-Contrast-Enhanced Sonography for Diagnosis of Rectal Lesions With Pathologic Correlation. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2014;33(4):575-583. DOI:10.7863/ultra.33.4.575
13. Wang Y, Li L, Wang YXJ, et al. Time-Intensity Curve Parameters in Rectal Cancer Measured Using Endorectal Ultrasonography with Sterile Coupling Gels Filling the Rectum: Correlations with Tumor Angiogenesis and Clinicopathological Features. *Bio Med Res Int*. 2014; 2014:587806. DOI:10.1155/2014/587806
14. Cârțână ET, Gheonea DI, Cherciu IF, et al. Assessing tumor angiogenesis in colorectal cancer by quantitative contrast-enhanced endoscopic ultrasound and molecular and immunohistochemical analysis. *Endosc Ultrasound*. 2018;7:175-83. DOI: 10.4103/eus.eus\_7\_17



## THE FIRST EXPERIENCE OF CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND IN EPITHELIAL RECTAL TUMORS

Evgeniya M. Bogdanova, Larisa P. Orlova, Yuliya L. Trubacheva, Evgeniy A. Khomyakov, Evgeniy G. Rybakov.

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

*AIM:* to evaluate the diagnostic capabilities of contrast-enhanced ultrasound for the diagnostics of epithelial rectal tumors.

*PATIENTS AND METHODS:* the study included 15 patients, who underwent endorectal ultrasound and transvaginal contrast-enhanced ultrasound. All the patients underwent surgery.

*RESULTS:* morphology revealed adenomas in 9 cases, and adenocarcinomas with different invasion depth in 6 cases.

When analyzing the tumors contrast, significant differences in arrival time of contrasting between adenomas and adenocarcinomas were obtained ( $p = 0.041$ ), and the contrast enhancement of adenocarcinomas was faster ( $p = 0.036$ ).

Negative correlations of peak intensity of contrast enhancement of hypoenhanced zones in adenocarcinoma with indices T ( $r_{xy} = -0.781$ ;  $p = 0.001$ ) and N ( $r_{xy} = -0.519$ ;  $p = 0.047$ ) and a positive correlation with the tumor differentiation degree ( $r_{xy} = 0.742$ ;  $p = 0.002$ ) were established. Also, the negative correlation of the arrival time with the index T ( $r_{xy} = -0.552$ ;  $p = 0.033$ ) was found.

*CONCLUSION:* contrast-enhanced ultrasound is an imaging technique that allows real-time qualitative and quantitative assessment of tumor tissue perfusion. The method is not standardized, but it can be a useful non-invasive method for assessing the blood supply of rectal tumors at the preoperative stage, and also has the potential to assess risk factors for lymphogenic metastasis.

[Key words: contrast-enhanced ultrasound, rectal cancer, rectal adenoma]

CONFLICTS OF INTERESTS: The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Bogdanova E.M., Orlova L.P., Trubacheva Yu.L., Khomyakov E.A., Rybakov E.G. The first experience of contrast-enhanced ultrasound in epithelial rectal tumors. *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 57-70. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-57-70>

Address for correspondence: Bogdanova E.M., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: bogdanova.zh.m@gmail.com

Received – 22.07.2020

Revised – 17.09.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

### INTRODUCTION

Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) is a new method for evaluating the vascularization of tumors of various localization, based on the use of stabilized gas microbubbles and the dependence of the image intensity on the concentration of bubbles in the vascular network.

The first contrast agent officially registered in 1982 was Echovist (Schering, Berlin, Germany), which had a low stability of microbubbles and was used mainly in echocardiography.

Further, drugs with a longer period of action were developed and introduced into practice, which are now used for the study of organs of the abdominal cavity and pelvis, breast and thyroid glands, as well as used in the study of transplants and abdominal injuries [1]. In addition, there are single reports of the use of

CEUS in the diagnosis of neoplasms of the liver, pancreas and breast, as well as other organs [2-5].

Currently, the most widely used contrast agent of the second generation is SonoView® (Bracco, Milan, Italy), consisting of per fluorocarbon gas (sulfur hexafluoride) stabilized with surfactants.

Micro-bubbles of gas are formed by mixing saline solution with lyophilizate and remain stable in the vial for several hours. The gas fraction in the vial is sulfur hexafluoride, and the lyophilized powder is made from a combination of pharmaceutically high-quality polyethylene glycol, phospholipids and palmitic acid.

Due to this combination, the drug has a low frequency of side effects [6]. The development of drugs with a more stable microbubble membrane continues [7].

The use of contrast agents in the diagnosis of colorectal cancer has not been carried out yet.

## AIM

The aim of our study is to evaluate the diagnostic capabilities of contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of rectal epithelial tumors.

## PATIENTS AND METHODS

Fifteen females at an average age of  $65 \pm 11$  ( $M \pm \sigma$ ) years with histologically confirmed glandular tumors of the rectum were included in the pilot study.

In 3/15 (20%) patients, the tumor was in the low rectum, in 9/15 (60%) – in the middle rectum and in 3/15 (20%) – in the upper ampullary rectum. The average distance of the tumor from the anal verge ( $M \pm SD$ ) was  $9.6 \pm 4.1$  cm, and the average size of the tumor ( $M \pm SD$ ) was  $44 \pm 15$  mm in diameter.

All the patients at the preoperative stage underwent multiparametric endorectal ultrasonography (ERUS) and transvaginal ultrasonography (US) with contrast enhancement. The exclusion criteria were the recurrent tumor and chemoradiotherapy at the preoperative stage.

All the patients gave their written consent to participate in the study and to have their personal data processed.

Ultrasound was performed on a Hi Vision Preirus device (Hitachi®, Japan) with pre-installed software for contrast-enhanced studies. ERUS was performed using multifrequency biplane rectal sensor with a frequency of 5-10 MHz, transvaginal ultrasound - with the help of intracavitary miniconvex sensor with a frequency of 4-8 MHz.

Previously, the intestinal lumen was cleansed with low-volume enemas.

The first stage was multiparametric ERUS, which included the assessment of the tumor in B-mode, energy dopplerography, and compression elastography.

At this stage, the site, structure and shape of the tumor, the depth of invasion, the preservation of angioarchitectonics, as well as a qualitative and quantitative assessment of the stiffness of the neoplasm tissue were evaluated.

At the next stage, the transvaginal ultrasound of the tumor with intravenous contrast-enhanced agent of sulfur hexafluoride lyophilisate was performed.

Through a cannula, 2.4 ml of SonoVue® contrast agent (Bracco, Milan, Italy) was bolus-injected into the cubital vein, followed by 10 ml of saline.

The device settings were identical for each patient with a frame rate of 15 frames per second and a mechanical index of 0.07.

Two video loops were recorded for 2 minutes each:

recording the periods of accumulation and washing out the contrast agent and recording the study with sequential activation of the "flash" and "maximum intensity" modes (IMAX). The resulting video loops were stored on the hard disk of the device for subsequent qualitative and quantitative analysis of tumor contrast at the end of the study.

Time was measured from the moment of drug injection; contrast (signal amplification) was observed in real time. When analyzing the periods of accumulation and washing out of the contrast agent, the regions of interest (ROI) were selected manually for subsequent construction of the time-intensity curve (TIC) and calculation of the tumor contrast parameters: peak intensity (PI), time before contrasting - arrival time (AT), time to peak (TTP), accumulation time - wash-in-time (WIT) (Fig.1,2).

Ultrasound was performed for analysis of the study recording using the Flash and IMAX modes. The tumor contrast was evaluated by degree (hypo- or hypercontrast enhancement) and homogeneity (homogeneous or heterogeneous contrast enhancement). The Flash mode causes simultaneous destruction of microbubbles and subsequent re-distribution of the contrast agent through the vessels, which was later used to apply the peak intensity mode. The IMAX mode allows summation of signals from the contrast agent during the time period when this mode is enabled.

All the patients were operated on depending on the tumor site. In 7/15 (46.7%) cases, radical transabdominal procedures were performed (low anterior resection). Eight patients (53.3%) underwent organ-preserving procedures: endoscopic dissection in the submucosal layer (ESD) or transanal endomicrosurgical removal (TEM).

Statistical data processing was performed using IBM SPSS v.23.0 software. Two-way exact Fisher test was used to compare binary parameters, and Mann-Whitney U-test was used to compare medians.

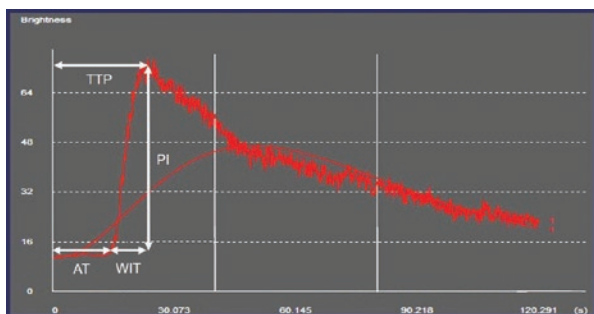
In order to reveal the correlation between the parameters presented by quantitative data, the Spearman correlation test was done.

The obtained differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

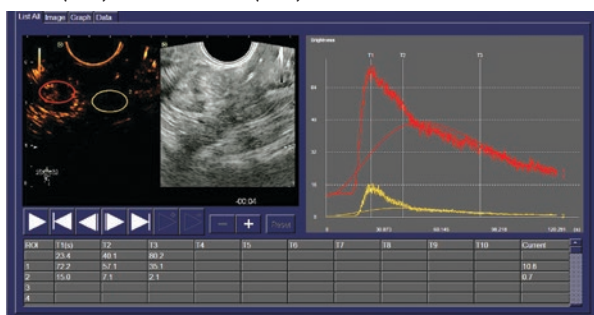
## RESULTS

The pilot study included 15 females whose gender restrictions were related to technical support and the ability to perform ultrasound with contrast enhancement only using a transvaginal miniconvex sensor.

Preoperative biopsy revealed signs of adenomas in 9 cases, and signs of glandular cell atypia characteristic of adenocarcinomas in 6 cases.



**Figure 1.** Time-intensity curve (TIC) from region of interest (ROI) within the tumor and the ultrasound TIC parameters. Peak intensity (PI), Arrival time (AT), time to peak enhancement (TTP), wash-in-time (WIT)



**Figure 2.** Echogram of rectal adenocarcinoma. Time-intensity curves of the selected contrast zones: ROI 1 is highlighted in red, and ROI 2 is highlighted in yellow. The table shows the values of enhancement at various points of the study – the peak intensity at 23.4 seconds (PI ROI1 72.2 dB, PI ROI2 15.0 dB)

The final pathomorphology of removed specimens detected adenomas in 9/15 (60%) with moderate (6/9 (66.7%) or severe (3/9 (33.3%) epithelial dysplasia.

6/15 (40%) female patients showed adenocarcinomas, which had moderate differentiation in 5/6 (83.3%) cases and high differentiation in only 1(16.7%). In 2/6 (33.3%) cases, histology of the specimens revealed the presence of tumor necrosis sites.

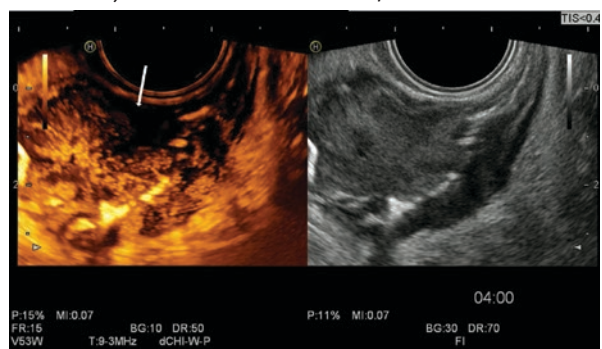
When multiparametric ERUS was performed, in 11/15 (73.3%) cases a conclusion was made about the presence of a malignant tumor, and the final pathomorphological study confirmed the presence of adenocarcinoma in 6/15 (40%) cases. Thus, the results of preoperative ultrasound and postoperative pathomorphology did not coincide in 33.3% of cases.

When analyzing the nature of tumor contrast in the maximum enhancement mode, 5 (83.3%) of the six adenocarcinomas had heterogeneous contrast with the presence of a hyperenhanced contrast peripheral zone and a hypoenhanced areas of various sizes located centrally (Fig.3). In 1/6 (16.7%) cases, the tumor had homogeneous contrast. In contrast, in 7(77.8%) of 9 patients with adenomas, the tumor had a homogeneous hyperenhanced contrast image, in 2/9 (22.2%) cases,

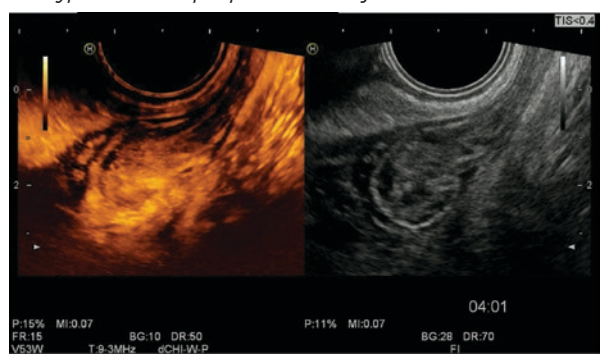
heterogeneous contrast was obtained with the presence of a small hypoenhanced contrast area in the lower pole (Fig.4). When comparing adenomas and adenocarcinomas, significant differences were obtained depending on the contrast pattern ( $p=0.041$ ).

In 7/9 adenomas (77.8%), a hyperenhanced central vessel was visualized, which is well differentiated against the background of the surrounding hyperenhanced contrast tumor tissue (Fig.5). Among the cases of adenocarcinomas, this pattern of contrast enhancement was noted in no cases. When comparing the data obtained, significant differences were revealed ( $p=0.007$ ).

When analyzing quantitative indicators of contrast enhancement, due to the pronounced heterogeneity of adenocarcinoma contrast, the peak intensity (PI) for the latter was measured twice - in the peripheral hyperenhanced zone (region of interest 1) and additionally in the central hypoenhanced zone (region of interest 2). The data obtained are presented in table 1.

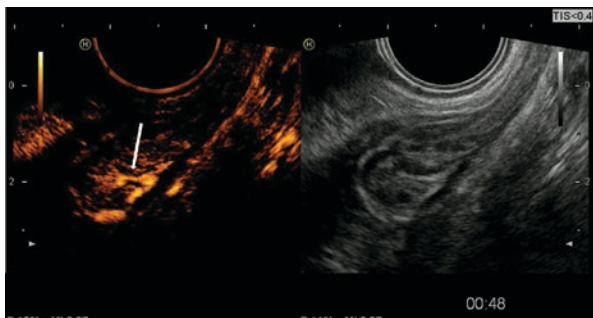


**Figure 3.** Echogram of rectal adenocarcinoma with contrast-enhanced ultrasound in IMAX mode. Heterogeneous contrast was observed with the hypoenhanced central zone (arrow) and the hyperenhanced peripheral areas of the tumor



**Figure 4.** Echogram of rectal adenoma with contrast-enhanced ultrasound in IMAX mode, hyper contractive homogeneous enhancement of the tumor marked

When comparing groups by quantitative parameters, significant differences were found when comparing the level of peak intensity of contrast between adenomas and a similar indicator in the additional region of



**Figure 5.** Echogram of rectal adenoma with contrast-enhanced ultrasound. The arrow marks the contrasted central vessel in the tumor tissue

interest of adenocarcinomas ( $p < 0.001$ ).

There were also significant differences between the groups when they were compared in terms of AT ( $p = 0.036$ ). Adenocarcinoma contrast occurred faster than adenoma contrast (medians were 15 and 23 seconds, respectively). There were no significant differences in WIT and TTP between adenomas and adenocarcinomas, but the lack of significance is probably due to a small sample of patients.

Significant negative correlations of peak contrast intensity in the additional region of interest were found with the indices T ( $p = -0.781$ ;  $p = 0.001$ ) and N ( $p = -0.519$ ;  $p = 0.047$ ), and a direct correlation with the degree of tumor differentiation ( $p = 0.742$ ;  $p = 0.002$ ) (Table 2).

The greater the depth of invasion and the lower the degree of differentiation of adenocarcinomas, the

sparser contrast is in the central hypoenhanced contrast areas of the tumor.

Also, a significant negative correlation was found between the arrival time of the tumor contrast (AT) and the index T ( $p = -0.552$ ;  $p = 0.033$ ), that is, the greater the depth of invasion, the earlier the tumor tissue contrast occurs.

No reliable correlations were obtained for other parameters.

## DISCUSSION

Angiogenesis is a critical process of tumor growth and metastasis resulting from the interaction of numerous growth factors and signaling molecules that lead to activation of endothelial cells and the formation of new blood vessels.

Currently, the standard method for quantifying angiogenesis is immunofluorescence analysis of intra tumor microvessel density, which determines the number of vessels per unit volume.

Later, using contrast-enhanced ultrasound, it became possible to quantify perfusion based on the analysis of time-intensity curves (TIC), which reflect changes in the signal intensity of the region of interest over time [8].

Methodologically, contrast-enhanced ultrasound can be performed in several ways:

1. After bolus injection of a contrast agent, a video recording of the image of the object under study is made in one plane during the entire period of contrast.

**Table 1.** Quantitative parameters of contrast-enhanced ultrasound in the study groups

Parameters of CEUS	adenocarcinoma n = 6	adenoma n = 9	p
	Me (Q1:Q3) *	Me(Q1:Q3) *	
Peak intensity of ROI 1. dB	66.3 (39.2:72.1)	47.0 (35.0:65.9)	0.6
Peak intensity of ROI 2. dB	14.9 (9.9:15.2)		<0.001
AT (arrival time). s	15.0 (14.3:18.0)	23.0 (22.0:23.0)	0.04
WIT (wash-in-time). s	15.2 (12.4:17.4)	14.0 (10.0:24.0)	0.9
TTP (time-to-peak). s	29.7 (25.6:35.4)	39.0 (33.0:47.0)	0.1

\*Me-median. Q1-Q3 - 1 and 3 quartiles

**Table 2.** Correlations time-intensity curve parameters with histologic grade. T and N stage

Parameters of CEUS	Differentiation degree		pT		pN	
	p*	p	p*	p	p*	p
	Peak intensity of ROI 1. dB	- 0.179	0.522	0.097	0.731	0.440
Peak intensity of ROI 2. dB	0.742	0.002	- 0.781	0.001	- 0.519	0.047
AT. s	0.358	0.190	- 0.552	0.033	- 0.480	0.070
WIT. s	0.160	0.570	- 0.166	0.554	- 0.228	0.414
TTP. s	0.413	0.126	- 0.501	0.057	- 0.445	0.097

p\* - Spirmen correlation coefficient



Next, the parameters of the time-intensity curve (TIC) of one region of interest are analyzed [9].

2. The technique of contrast is similar to the first one, but in addition to the main one, the second region of interest is highlighted, which is exposed to the "control" tissue for subsequent comparison of quantitative parameters [10].

3. Intravenous administration of the drug with the analysis of contrast agent replenishment of the region of interest: the drug is administered using a pump or drip for 5-20 minutes.

First, the contrast of the object under study is displayed at the initial settings of the device with a low value of the mechanical index (MI), then MI increases briefly, causing the destruction of bubbles (Flash mode).

Immediately after this, the MI level returns to the initial level to observe the replenishment of the region of interest with a contrast agent [11].

We found the most informative study of the object image in one plane during the contrast period in combination with the study in the Flash and IMAX modes. The first part of the study allows you to get quantitative indicators of contrast, the second - to assess its nature in detail (to get qualitative indicators).

It is important to note that the method is not standardized, since at the moment there are only few publications about its use in the diagnostics of rectal cancer.

Most often, in the corresponding studies, the authors study only the most contrasting areas of the tumor, the analysis of the contrast parameters of hypoenhanced zones was not performed [12,13].

In a single-center prospective study by Lu M. et al., which included 172 patients with adenocarcinomas and 45 patients with adenomas, double-contrast ERUS (intraluminal and intravenous) were performed [12]. The results of the study showed that adenocarcinomas have a faster arrival time of contrast and a greater intensity of contrast compared to adenomas ( $p < 0.001$ ), which coincides with the results obtained and indicates the reproducibility of the study.

However, the authors interpreted hypoenhanced contrast areas as zones of necrosis without specifying the percentage of necrotic changes detected during the final pathomorphological study.

In our study, the presence of central hypoenhanced contrast zones was noted in 83.3% of adenocarcinomas, while necrosis zones were confirmed by histology only in a third of cases, which can be explained by the proportion of patients with advanced tumors.

Wang Y. et al. also analyzed the results of the most

contrasting areas of adenocarcinomas in 66 patients and found a direct correlation between peak intensity and microvascular density ( $r = 0.295$ ,  $p = 0.016$ ) and a negative correlation with the degree of differentiation ( $r = -0.264$ ,  $p = 0.007$ ) [13].

In the course of our pilot study, we analyzed the contrast indicators of both hyperenhanced peripheral zones and hypoenhanced central areas of the tumor.

Negative correlations of peak contrast intensity in hypocontrasted central areas (additional regions of interest) with the indices T ( $p = -0.781$ ;  $p = 0.001$ ) and N ( $p = -0.519$ ;  $p = 0.047$ ) and a direct correlation with the degree of tumor differentiation ( $p = 0.742$ ;  $p = 0.002$ ) were established. The lack of patterns for hyperenhanced areas is more likely due to a small sample of patients, which is the main limitation of our study.

Comparison of contrast parameters with markers of tumor angiogenesis obtained from immunohistochemical and genetic analysis is promising. In the study by Cârțână E.T. et al., which included 42 patients with adenocarcinomas, positive correlations were found between the parameters of the time-intensity curve and metastasis to locoregional lymph nodes ( $p < 0.05$ ) [14]. No other correlations were found between the CEUS parameters and the depth of invasion or the degree of tumor differentiation. In addition, no correlation was found between the calculated curve parameters and the expression of the VEGFR1 or VEGFR2 gene.

However, the authors found a positive correlation between the parameters of WIT and TTP with the density of the vasculature in the tumor, which was assessed using CD31 immunohistochemical staining with the calculation of vascular area ( $r_{xy} = 0.415$  and  $r_{xy} = 0.421$ , respectively,  $p < 0.05$ ).

## CONCLUSIONS

Contrast-enhanced ultrasound is an imaging technique that allows real-time qualitative and quantitative assessment of tumor tissue perfusion.

The method is not standardized. However, it can become a useful non-invasive method for assessing blood supply to rectal tumors at the preoperative stage, and also has the potential to assess risk factors for lymphogenic metastasis.

We consider it promising to further study the effectiveness of contrast-enhanced ultrasound in assessing tumor vascularization as a factor of regional and long-term metastasis that affects the surgical approach for rectal tumors.



## THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Bogdanova E.M., Trubacheva Yu.L.*

Collection and processing of the material: *Bogdanova E.M., Orlova L.P.*

Statistical processing: *Bogdanova E.M., Khomyakov E.A.*

Writing of the text: *Bogdanova E.M., Khomyakov E.A.*

Editing: *Rybakov E.G., Trubacheva Yu.L., Khomyakov E.A.*

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ORCID

Bogdanova E.M. 0000-0001-7734-3069

Trubacheva Yu.L. 0000-0002-8403-195X

Orlova L.P. 0000-0002-1525-4009

Khomyakov E.A. 0000-0002-3399-0608

Rybakov E.G. 0000-0002-3919-9067

## REFERENCES:

1. Vasiliev A.Yu., Kapustin V.V., Vasilieva Yu.N., Shumina Ya.A. Comparison of Ultrasound Contrast Agents (Literature Review). *Ultrasound and Functional Diagnostics*. 2016; no.4, pp.73-81. (In Russ.).
2. Sencha A.N., Mogutov M.S., Patrunov Yu.N. et al. Ultrasound examination using contrast agents. Moscow: Vidar-M. 2015; 144 p. (In Russ.).
3. Askerova N., Stepanova Y., Timina I. Quantitative perfusion analysis and time intensity curve analysis in differential diagnosis of solid pancreatic tumors by contrast-enhanced ultrasound. A pilot study. *Medical Vizualization*. 2017; v.21, no.3, pp. 82-87. (In Russ.).
4. Bikeev Yu.V., Sencha A.N., Rodionov V.V. et al. Qualitative analysis of ultrasound using a contrast agent in the differential diagnosis of palpable breast abnormalities. *Medical Vizualization*. 2019, no.1, pp. 87–96. (In Russ.).
5. Vetsheva N.N., Fisenko E.P., Stepanova Yu.A., Kamalov Yu.R., et al. Contrast Enhanced Ultrasound: Terminology, Technical and Methodological Aspects. *Medical Vizualization*. 2016; no. 4 pp. 132-140. (in Russ.).
6. Askerova N.N., Karmazanovsky G.G. Contrast-Enhanced Imaging with Utilization of SonoVue®: Ways of Improvement of Ultrasonic Diagnosis of Focal Lesions in Parenchymal Organs of Abdominal Cavity and Retroperitoneal. *Medical Vizualization*. 2015; no. 1, pp.115-125. (In Russ.).
7. DeLeon A, Perera R, Hernandez C, et al. Contrast Enhanced Ultrasound Imaging by Nature-Inspired Ultrastable Echogenic Nanobubble. *Nanoscale*. 2019; DOI: 10.1039/C9NR04828F
8. Dietrich CF, Averkiou MA, Correas JM, et al. An EFSUMB introduction into Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound (DCE-US) for quantification of tumour perfusion. *Ultraschall Med*. 2012;33:344-51.
9. Peronneau P, Lassau N, Leguerney I, et al. Contrast ultrasonography: necessity of linear data processing for the quantification of tumor vascularization. *Ultraschall Med*. 2010;31:370-378. DOI: 10.1055/s-0029-1245450
10. Averkiou M, Lampaskis M, Kyriakopoulou K, et al. Quantification of tumor microvasculature with respiratory gated contrast enhanced ultrasound for monitoring therapy. *Ultrasound Med Biol*. 2010; 36:68-77. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.07.005
11. Williams R, Hudson JM, Lloyd BA, et al. Dynamic Microbubble Contrast enhanced US to Measure Tumor Response to Targeted Therapy: A Proposed Clinical Protocol with Results from Renal Cell Carcinoma Patients Receiving Antiangiogenic Therapy. *Radiology*. 2011;260:581-590. DOI: 10.1148/radiol.11101893
12. Lu M, Yan B, Song J, et al. Double-Contrast-Enhanced Sonography for Diagnosis of Rectal Lesions With Pathologic Correlation. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2014;33(4): 575-583. DOI:10.7863/ultra.33.4.575
13. Wang Y, Li L, Wang YXJ, et al. Time-Intensity Curve Parameters in Rectal Cancer Measured Using Endorectal Ultrasonography with Sterile Coupling Gels Filling the Rectum: Correlations with Tumor Angiogenesis and Clinicopathological Features. *Bio Med Res Int*. 2014; 2014:587806. DOI:10.1155/2014/587806
14. Cârțână ET, Gheonea DI, Cherciu IF, et al. Assessing tumor angiogenesis in colorectal cancer by quantitative contrast-enhanced endoscopic ultrasound and molecular and immunohistochemical analysis. *Endosc Ultrasound*. 2018;7:175-83. DOI: 10.4103/eus.eus\_7\_17

# НЕЙТРОФИЛЬНО-ЛИМФОЦИТАРНОЕ ОТНОШЕНИЕ, КАК БИОМАРКЕР ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ В КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ ХИРУРГИИ (собственные данные, систематический обзор и метаанализ)

Шельгин Ю.А., Сухина М.А., Набиев Э.Н., Пономаренко А.А., Нагудов М.А., Сушков О.И., Москалев А.И., Ачкасов С.И.

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России (ул.Саляма Адила, д.2, Москва, 123423, Россия)

**ВВЕДЕНИЕ:** биологические маркеры воспаления относятся к основному инструменту прогнозирования риска развития послеоперационных инфекционных осложнений на доклиническом этапе. Одним из таких биомаркеров является нейтрофильно-лимфоцитарное отношение (НЛО), однако недостаточное количество исследований не позволяет судить о его ценности как маркера инфекционных осложнений в колоректальной хирургии.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** определить предсказательную ценность НЛО как предиктора инфекционных осложнений после операций на толстой кишке.

**ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:** с января 2018 года по декабрь 2019 года в исследование было включено 192 пациента после операций на толстой кишке. Определяли частоту инфекционных осложнений, различия в уровнях НЛО у больных с инфекционными осложнениями и без них, оценивали площадь под кривой (AUC), чувствительность, специфичность, отрицательную и положительную прогностическую значимость этого показателя на 3 и 6 послеоперационный день (ПОД). Был проведен поиск литературы и метаанализ данных в соответствии с требованиями PRISMA (the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses check list) в электронной базе Medline и научной электронной библиотеке E-library среди англоязычной и русскоязычной литературы без ограничений по дате публикации по ключевым словам: «neutrophil/lymphocyte ratio», «neutrophil-to-lymphocyte ratio», «neutrophil lymphocyte ratio», «neutrophil ratio», «lymphocyte ratio», «colorectal», «colon», «rectum», «нейтрофильно-лимфоцитарное отношение», «нейтрофильно-лимфоцитарный индекс». В систематический обзор были включены все исследования, посвященные оценке прогностической ценности НЛО как предиктора инфекционных осложнений в колоректальной хирургии.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** инфекционные осложнения были выявлены у 29 (15,1%) из 192 пациентов. На 3 и 6 ПОД медиана значений НЛО у пациентов с инфекционными осложнениями была выше, чем у пациентов без них ( $p=0,0017$  для 3 ПОД;  $p=0,018$  для 6 ПОД). На 3 ПОД площадь под кривой при точке отсечки НЛО 5,13 составила 0,644, чувствительность – 69,7%, специфичность – 60,7% ( $p=0,019$ ). На 6 ПОД аналогичные показатели при точке отсечки НЛО 3,94 были равны 0,75, 75,9% и 70,6%, соответственно ( $p<0,001$ ).

Четыре исследования (1152 наблюдения) были включены в метаанализ. На 3 ПОД объединенная AUC составила 0,671, чувствительность – 86,3%, специфичность – 60,3% ( $p=0,014$ ), а риск инфекционного осложнения при значении биомаркера выше порогового возрастал более, чем в 10 раз ( $ОШ=10,2$ ; 95% ДИ: 1,4–72). На 4 ПОД вышеуказанные показатели были равны 0,711, 75,4%, 87,5%, соответственно ( $p=0,002$ ). Отношение шансов составило 51 (95% ДИ: 20–128).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** нейтрофильно-лимфоцитарное отношение является достоверным предиктором в прогнозировании риска развития инфекционных осложнений в колоректальной хирургии. Кроме того, низкие значения данного биомаркера являются значимым критерием безопасной выписки пациентов из стационара. Распространенность и доступность данного теста делает его легко воспроизводимым в клинической практике.

**[Ключевые слова: колоректальная хирургия, послеоперационные инфекционные осложнения, инфекция в области хирургического вмешательства, биомаркер воспаления, нейтрофильно-лимфоцитарное отношение]**

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Шельгин Ю.А., Сухина М.А., Набиев Э.Н., Пономаренко А.А., Нагудов М.А., Сушков О.И., Москалев А.И., Ачкасов С.И. Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение, как биомаркер инфекционных осложнений в колоректальной хирургии (собственные данные, систематический обзор и метаанализ). *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 71–92. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-71-92>

# NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE RATIO AS AN INFECTIOUS COMPLICATIONS BIOMARKER IN COLORECTAL SURGERY (own data, systematic review and meta-analysis)

Yuri A. Shelygin, Marina A. Sukhina, Elnur N. Nabiev, Alexey A. Ponomarenko, Marat A. Nagudov, Alexey I. Moskalev, Oleg I. Sushkov, Sergey I. Achkasov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology  
(Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**BACKGROUND:** biological markers of inflammation belong to the main tool for predicting the risk of infectious complications at the preclinical stage. One of such biomarkers is the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), but an insufficient number of studies does not allow us to estimate its value as a predictor of infectious complications in colorectal surgery.

**AIM:** to determine the predictive value of NLR as a predictor of infectious complications after colorectal surgery.

**PATIENTS AND METHODS:** from January 2018 to December 2019 192 patients after colorectal surgery were included in the study. The rate of infectious complications, NLR levels differences in patients with and without infectious complications were determined, the area under the curve (AUC), sensitivity, specificity, negative and positive prognostic value of NLR on the 3rd (POD) and the 6th (POD) postoperative days were assessed. A literature search and meta-analysis of the data in accordance with the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses checklist (PRISMA) were conducted. The information was taken from the Medline electronic database and the E-library, scientific electronic library, among the English and Russian literature without publication date restrictions by the keywords: "neutrophil/lymphocyteratio", "neutrophil-to-lymphocyte ratio", "neutrophil lymphocyte ratio", "neutrophil ratio", "lymphocyte ratio", "colorectal", "colon", "rectum". The systematic review included all the studies related to assessing the prognostic value of NLR as a predictor of infectious complications in colorectal surgery.

**RESULTS:** infectious complications were detected in 29 (15.1%) of 192 patients. On the 3rd and the 6th POD, the patients with infectious complications had higher median NLR values than the patients without complications ( $p=0.0017$  for the 3rd POD;  $p=0.018$  for the 6th POD). On the 3rd POD, the area under the curve at the NLR cut-off point 5.13 was 0.644, sensitivity – 69.7%, specificity – 60.7% ( $p=0.019$ ). On the 6th POD, similar indicators at an NLR cut-off point of 3.94 were 0.75, 75.9% and 70.6%, respectively ( $p<0.001$ ). Four studies, which included 1,152 observations, were added in the meta-analysis. On the 3th POD, the summarized AUC was 0.671, sensitivity – 86.3%, specificity – 60.3% ( $p=0.014$ ). The risk of infection with a biomarker above the threshold increased by more than 10 times (OR=10.2; 95% CI: 1.4-72). On the 4th POD, the above indicators were 0.711, 75.4%, 87.5%, respectively ( $p=0.002$ ). Odds ratio was 51 (95% CI: 20-128).

**CONCLUSION:** the neutrophil-to-lymphocyte ratio is a reliable indicator for predicting the risk of developing infectious complications in colorectal surgery. In addition, the low values of this biomarker are an important criterion for the safe discharge of patients from hospital. The prevalence and availability of this test makes it easily feasible in clinical practice.

[Key words: colorectal surgery, postoperative infectious complications, surgical site infection, inflammation biomarker, neutrophil-to-lymphocyte ratio]

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Shelygin Yu.A., Sukhina M.A., Nabiev E.N., Ponomarenko A.A., Nagudov M.A., Moskalev A.I., Sushkov O.I., Achkasov S.I. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an infectious complications biomarker in colorectal surgery (own data, systematic review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 71-92. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-71-92>

Адрес для переписки: **Набиев Э.Н., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России, ул. Салыма Адилья, д. 2, Москва, 123423, Россия; e-mail: elnur.n@hotmail.com**

Address for correspondence: **Nabiev E.N., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: elnur.n@hotmail.com**

Дата поступления – 19.07.2020

Received – 19.07.2020

После доработки – 09.09.2020

Revised – 09.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Послеоперационные инфекционные осложнения (далее инфекционные осложнения) являются актуальной проблемой колоректальной хирургии [1]. Их

частота может достигать 20% [2], а в 3% наблюдений стать причиной летального исхода [3]. У пациентов, оперированных по поводу рака толстой кишки, несостоятельность межкишечного анастомоза, как одно из проявлений инфекционного осложнения, может

приводить к возникновению местного рецидива заболевания [4] и отрицательно влияет на общую и безрецидивную выживаемость [3,5]. Стоит отметить, что развитие инфекционного осложнения увеличивает стоимость и длительность лечения [6,7]. Раннее выявление и своевременная активная лечебная тактика позволяют уменьшить последствия инфекционных осложнений [8].

Использование биомаркеров воспаления является одним из рутинных инструментов в мониторинге послеоперационного периода. Хирургические вмешательства тесно связаны с развитием системной воспалительной реакции организма, характеризующейся метаболическими и иммунологическими изменениями [9]. В этот период происходит увеличение уровня циркулирующих в крови нейтрофилов и снижение уровня лимфоцитов, что приводит к иммуносупрессии как одного из ключевых аспектов развития инфекционного осложнения [10]. В этой связи оценка уровня нейтрофильно-лимфоцитарного отношения (НЛО) может служить простым и эффективным инструментом для выявления пациентов с высоким риском развития инфекционных осложнений. Большинство исследований в колоректальной хирургии по данному биомаркеру посвящено изуче-

нию роли НЛО как предиктора рецидивов злокачественных новообразований [11,12] и маркера общей и безрецидивной выживаемости у пациентов, страдающих раком толстой кишки [13,14]. Существует ряд работ, которые характеризуют НЛО как маркер всех послеоперационных осложнений в колоректальной хирургии, однако малое их количество не позволяет полноценно оценить его клиническую значимость [15,16]. Для ответа на этот вопрос мы провели проспективное обсервационное исследование с целью оценки предсказательной ценности НЛО как биомаркера инфекционных осложнений в колоректальной хирургии. Учитывая отсутствие систематического обзора литературы и метаанализа данных, посвященных вышеуказанной проблеме, нами был выполнен поиск всех доступных аналогичных исследований, после чего был произведен кумулятивный метаанализ литературных и собственных данных.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить предсказательную ценность НЛО как предиктора инфекционных осложнений после операций на толстой кишке.

**Таблица 1.** Характеристика больных и особенности выполненных оперативных вмешательств

**Table 1.** Characteristics of patients and surgery types

Показатель	Результат
Пол, n (%)	
Мужчины	90(46,9%)
Женщины	102(53,1%)
Возраст, лет (Me, квартили)	62 (53;75)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> (Me, квартили)	27,7 (24,6;31,2)
Степень анестезиологического риска, n (%)	
I	85(44,3%)
II	51(26,6%)
III	46(23,9%)
IV	10(5,2%)
Тип оперативного вмешательства, n (%)	
Правосторонняя гемиколэктомия	20(10,4%)
Левосторонняя гемиколэктомия	16(8,3%)
Резекция сигмовидной кишки	27(14,1%)
Передняя резекция прямой кишки	26(13,6%)
Низкая передняя резекция прямой кишки	44(22,9%)
Брюшно-анальная резекция прямой кишки	12(6,2%)
Брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки	3(1,6%)
Реконструктивно-восстановительная операция	44(22,9%)
Длительность операции, мин. (Me, квартили)	200 (160;240)
Тип оперативного доступа, n (%)	
Открытый	108(56,3%)
Лапароскопический	84(43,7%)
Интраоперационная кровопотеря, мл (Me, квартили)	60 (40;105)
Послеоперационный койко-день (Me, квартили)	8 (7;11)

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли все пациенты, которым требовалось хирургическое лечение по поводу колоректального рака или была выполнена реконструктивно-восстановительная операция на толстой кишке при условии отсутствия персистирующих очагов инфекции, осложненных форм воспалительных заболеваний кишечника, аутоиммунных заболеваний, лейкопении либо лейкоцитоза (уровень лейкоцитов ниже  $4 \times 10^9/\text{л}$  и выше  $10 \times 10^9/\text{л}$ ). Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России.

В период с января 2018 по декабрь 2019 года в исследование включено 192 пациента, оперированного в нашем Центре. В 148(77,0%) из 192 случаев была выполнена резекция толстой кишки по поводу колоректального рака, а 44(23,0%) пациента перенесли реконструктивно-восстановительную операцию с ликвидацией одноствольной колостомы после операций по типу Гартмана (Табл.1). Медиана возраста пациентов составила 62(53;75) года. Статистически значимых различий в гендерном распределении выявлено не было. Большинство пациентов имело I степень анестезиологического риска, а средний индекс массы тела соответствовал нормальным значениям (Табл.1). Также не было существенных различий в типе операционного доступа (Табл.1).

Подсчёт нейтрофилов и лимфоцитов в венозной крови на первый, третий и шестой послеоперационный день (ПОД) производили при помощи аппарата CELL-DYN Ruby (Abbott; США). Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение рассчитывалось путем деления абсолютного количества нейтрофилов на абсолютное количество лимфоцитов в венозной крови.

$$\text{НЛО} = \frac{\text{Абсолютное количество нейтрофилов}}{\text{Абсолютное количество лимфоцитов}}$$

Мониторинг инфекционных осложнений у пациентов проводился на всем протяжении стационарного и амбулаторного этапов лечения до 30-го послеоперационного дня. Инфекционные осложнения в области хирургического вмешательства (ИОХВ) регистрировались согласно критериям Центра по контролю заболеваний и профилактики США. Послеоперационная отдаленная инфекция диагностировалась с учетом данных лабораторных и инструментальных методов исследований [17].

Нами был произведен поиск литературы и метаанализ, основанный на требованиях PRISMA (the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses check list) [18], в электронной базе

Medline среди англоязычных источников литературы и русскоязычных публикаций в научной электронной библиотеке E-library без ограничений по дате публикации (окончание поиска 04.06.2020 г.) по ключевым словам: «neutrophil/lymphocyte ratio», «neutrophil-to-lymphocyte ratio», «neutrophil lymphocyte ratio», «neutrophil ratio», «lymphocyte ratio», «colorectal», «colon», «rectum», «нейтрофильно-лимфоцитарное отношение», «нейтрофильно-лимфоцитарный индекс». В систематический обзор включены все исследования, посвященные оценке прогностической ценности НЛО как предиктора инфекционных осложнений в колоректальной хирургии.

При помощи поисковой системы PubMed в базе Medline, поисковой системы научной электронной библиотеки E-library на сайте <http://www.elibrary.ru/> по запросам, содержащим вышеуказанные ключевые слова, найдено 463 публикации. При скрининге отобрано 87 работ, соответствующих теме исследования. Затем были исключены обзоры литературы – 7 статей, публикации, посвященные оценке НЛО как предиктора общей и безрецидивной выживаемости – 71 статья, работы, посвященные оценке НЛО как биомаркера всех послеоперационных осложнений без разделения на инфекционные и неинфекционные – 6 статей. По результатам систематического обзора литературы было отобрано 3 исследования, оценивающих НЛО как предиктор инфекционных осложнений. Дополнительно были включены собственные данные (192 пациента). Метаанализу были подвергнуты результаты лечения 1152 пациентов (Рис.1) [19-21].

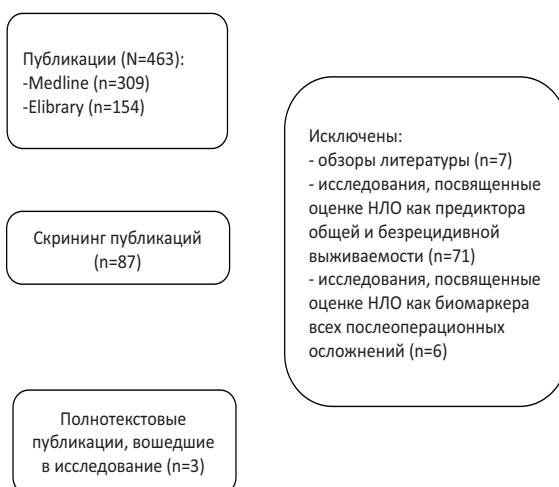
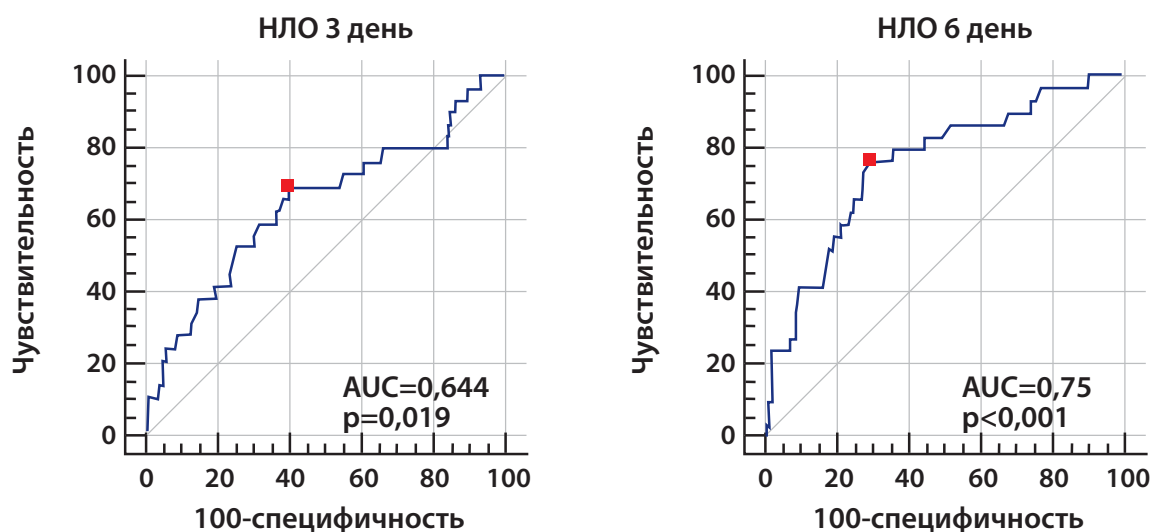


Рисунок 1. Диаграмма поиска литературы  
Figure 1. Literature search diagram



**Таблица 2.** Виды инфекционных осложнений  
**Table 2.** Types of infectious complications

Вид осложнения	n (%)
Органо-пространственные ИОХВ	13(44,9%)
Поверхностные ИОХВ	9(31%)
Послеоперационная отдаленная инфекция	5(17,2%)
Комбинированные инфекционные осложнения	2(6,9%)
Итого	29(100%)



**Рисунок 2.** ROC кривая для НЛО в качестве предиктора инфекционных осложнений на 3 и 6 ПОД  
**Figure 2.** ROC curve for the NLR as a predictor of infectious complications on the 3rd POD and on the 6th POD

### Статистическая обработка результатов

Данные о больных были внесены в электронную таблицу Excel. Статистическая обработка и графическое представление материала выполнялись с помощью программ SPSS Statistics 22.0, MedCalc version 19, Review Manager 5.4 и электронной среды RStudio для Windows. Сравнения средних величин произведены с применением непарного t-теста с поправкой Стьюдента для малых выборок. Тест Манна-Уитни был использован при непараметрическом распределении в совокупности. Определение точек отсечки значений НЛО на 3 и 6 послеоперационный день в качестве предиктора инфекционных осложнений проводили при помощи ROC-анализа (Receiver Operating Characteristic, ROC). Значение наилучшей чувствительности и специфичности были определены, основываясь на индексе Юдена. Для оценки предсказательной ценности НЛО относительно порогового уровня вычисляли чувствительность, специфичность, положительную и отрицательную прогностическую значимость. Результаты считались статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Собственное исследование

Инфекционные осложнения были выявлены у 29(15,1%) из 192 пациентов, включенных в протокол исследования (Табл.2). Почти половину наблюдений (44,9%;13/29) в структуре осложнений составила органо-пространственная ИОХВ, большая часть которой представлена несостоятельностью межкишечного анастомоза (92,3%; 12/13). Двум (6,9%) из 29 пациентов была установлена комбинированная инфекция в виде сочетания поверхностной ИОХВ и послеоперационной отдаленной инфекции. Медиана развития инфекционных осложнений составила 7 (4;8) дней после операции.

При сравнении медиан уровней НЛО у больных с инфекционными осложнениями и без них было получено статистически значимое увеличение уровня биомаркера для 3 ( $p=0,013$ ) и 6 ( $p<0,001$ ) ПОД. На 3 день медиана значений НЛО у больных с инфекционными осложнениями составила

**Таблица 3.** Характеристика включенных в метаанализ исследований  
**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies

Авторы	Год	Тип исследования	Количество случаев	Дни определения НЛО	Первичная точка исследования
Mik et al. (2018)	2018	Проспективное обсервационное	724	4	Органо-пространственная ИОХВ
Walker et al. (2018)	2018	Случай контроль	136	1-5	Органо-пространственная ИОХВ
Шельгин и соавт. (2017)	2017	Проспективное обсервационное	100	3	Органо-пространственная ИОХВ
Шельгин и соавт. (2020)	2020	Проспективное обсервационное	192	3 и 6	Инфекционные осложнения

**Таблица 3.** Характеристика, включенных в метаанализ исследований (продолжение 1).  
**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies (continuation 1)

Авторы	Операций на ободочной кишке	Операций на прямой кишке	Другие	Количество инфекционных осложнений	Частота инфекционных осложнений (%)
Mik et al. (2018)	419	305	0	33	4,6
Walker et al. (2018)	39	84	13	11	8,1
Шельгин и соавт. (2017)	0	100	0	20	20
Шельгин и соавт. (2020)	107	85	0	29	15,1

**Таблица 3.** Характеристика, включенных в метаанализ исследований (продолжение 2)  
**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies (continuation 2)

Авторы	АУС НЛО день 3	Точка отсечки НЛО день 3	Чувствительность НЛО (%) день 3	Специфичность НЛО (%) день 3	p НЛО день 3
Mik et al. (2018)	НД	НД	НД	НД	НД
Walker et al. (2018)	0,699	5,05	100	39,2	0,013
Шельгин и соавт. (2017)	0,65	3,7	95	83	0,26
Шельгин и соавт. (2020)	0,644	5,13	69	60,7	0,019

**Таблица 3.** Характеристика, включенных в метаанализ исследований (продолжение 3)  
**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies (continuation 3)

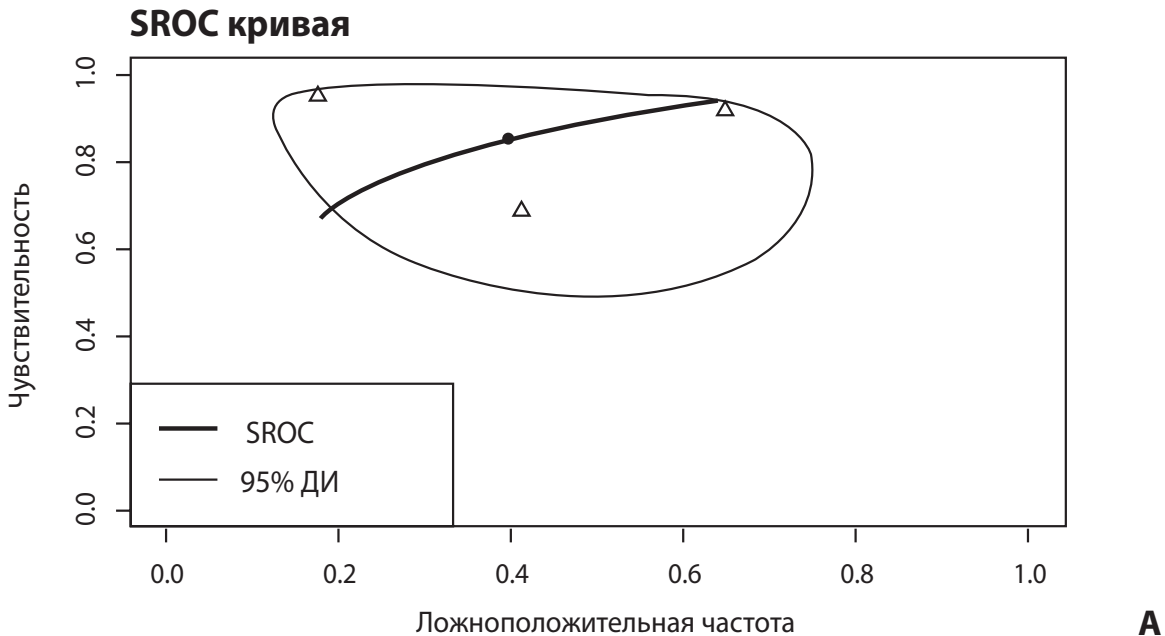
Авторы	АУС НЛО день 4	Точка отсечки НЛО день 4	Чувствительность НЛО (%) день 4	Специфичность НЛО (%) день 4	p НЛО день 4
Mik et al. (2018)	0,68	6,50	69	96,5	НД
Walker et al. (2018)	0,78	6,15	100	61,8	0,009
Шельгин и соавт. (2017)	НД	НД	НД	НД	НД
Шельгин и соавт. (2020)	НД	НД	НД	НД	НД

7(4,20;9,44), а на 6 ПОД – 5 (4;6,7). Для пациентов без инфекционных осложнений медиана биомаркера составила 4,8 (3,37;6,95) для 3 ПОД и 2,95 (2,28;4,25) для 6 ПОД.

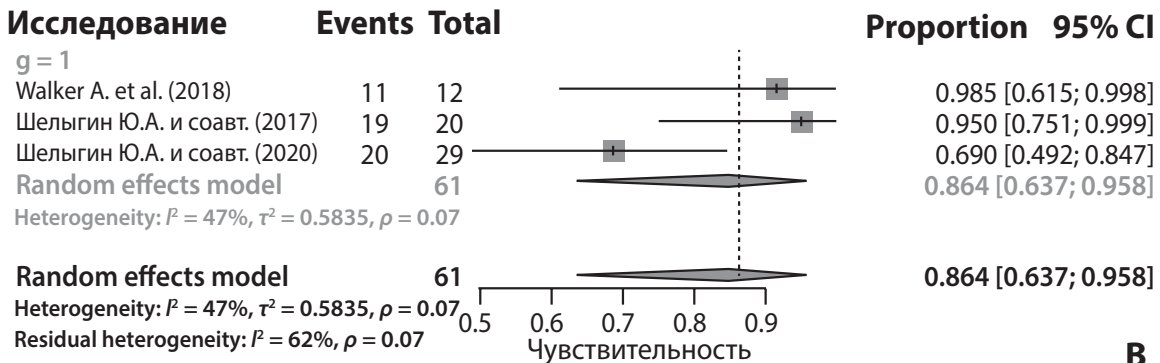
ROC-анализ уровня изменений НЛО на 3 ПОД показал площадь под кривой (АУС; area under curve) равную 0,64, что соответствует удовлетворительной модели анализа данных (Рис. 2). В соответствии с построенной ROC-кривой точка отсечки для НЛО была равна 5,13. На 3 сутки после операции чувствительность НЛО при уровне 5,13 составила 69% (95%ДИ:49,2-84,7%), специфичность – 60,7% (95%ДИ:52,8-68,3%), отрицательная прогностическая значимость – 91,7% (95%ДИ:86,3-95%), а положительная прогностическая значимость – 23,8%

(95%ДИ:18,6-29,9%). В соответствии с полученными данными значение НЛО на 3 ПОД менее 5,13 может говорить о крайне низком риске ПИО – 8,3%, в то же время при значении НЛО более 5,13, риск развития последних составляет 69% (p=0,019).

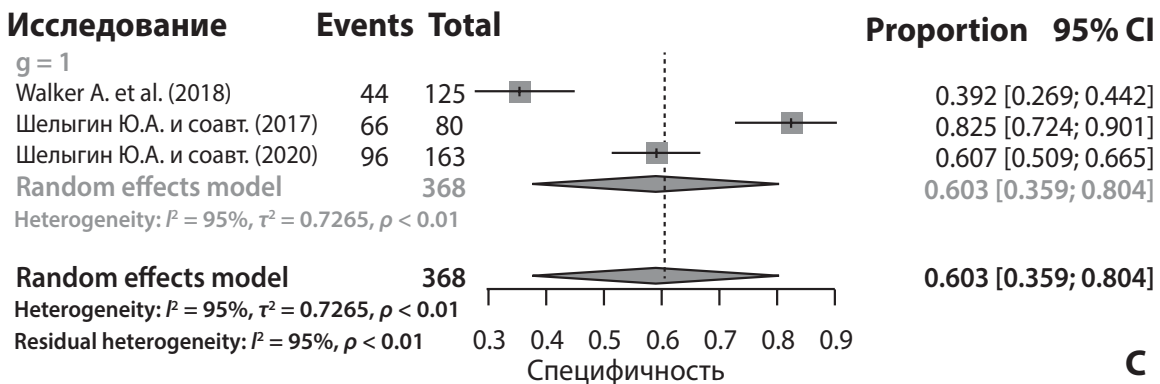
На 6 послеоперационный день АУС была равна 0,75, что свидетельствует о хорошем качестве модели анализа данных (Рис.2). Чувствительность НЛО на 6 ПОД при уровне отсечки биомаркера – 3,94 составила 75,9% (95% ДИ: 44,4-97,5%), специфичность – 70,6% (95% ДИ:84,5-98,2%), отрицательная прогностическая значимость – 94,3% (95% ДИ: 89,5-96,9%), а положительная прогностическая значимость – 31,4% (95% ДИ: 25,1-38,6%). По результатам, на 6 ПОД значение НЛО менее



**A**



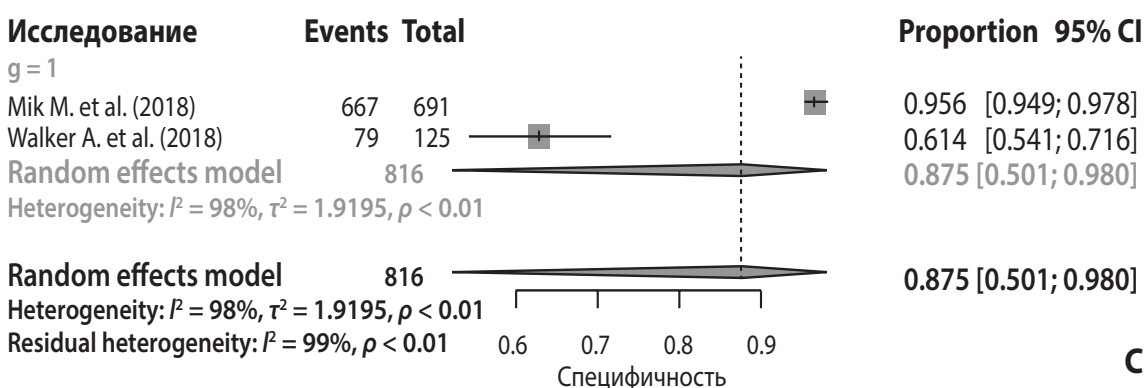
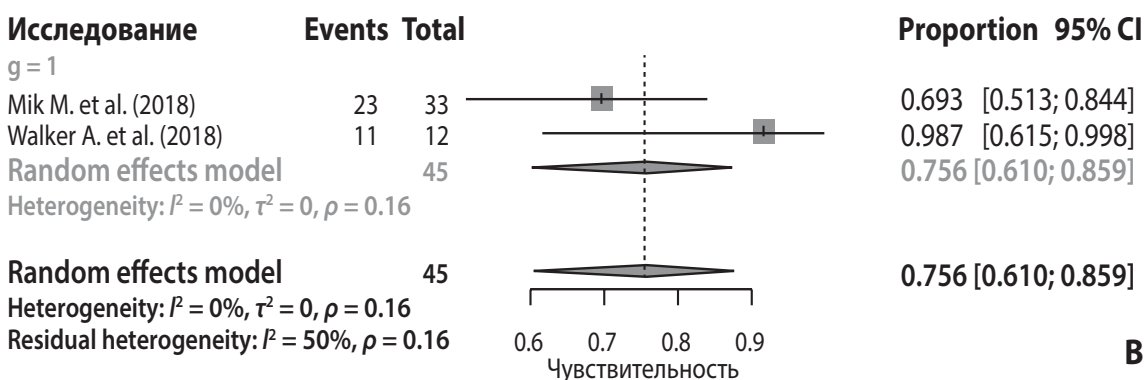
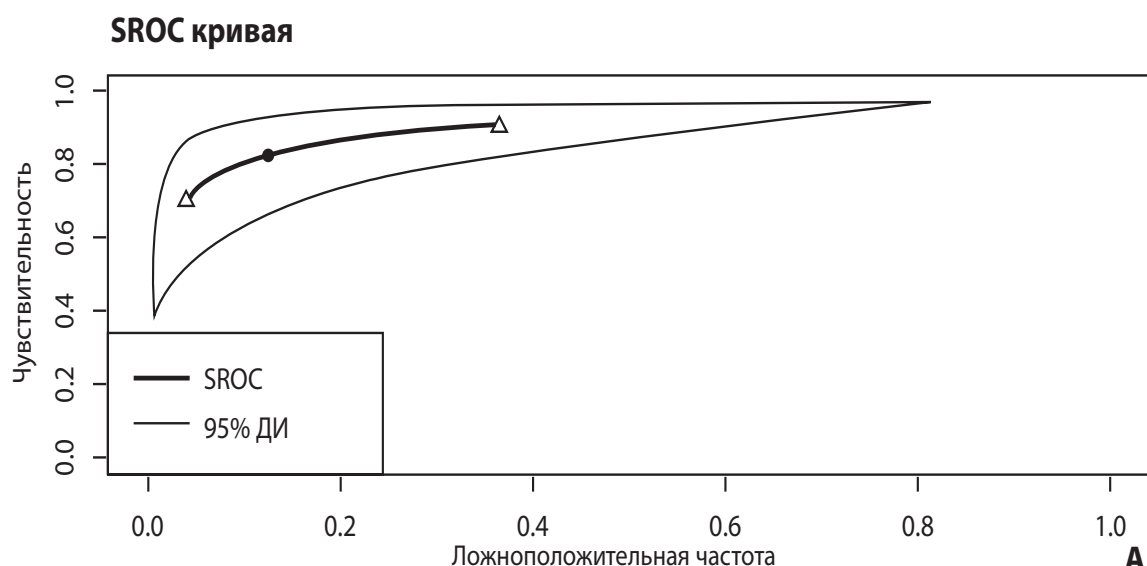
**B**



**C**

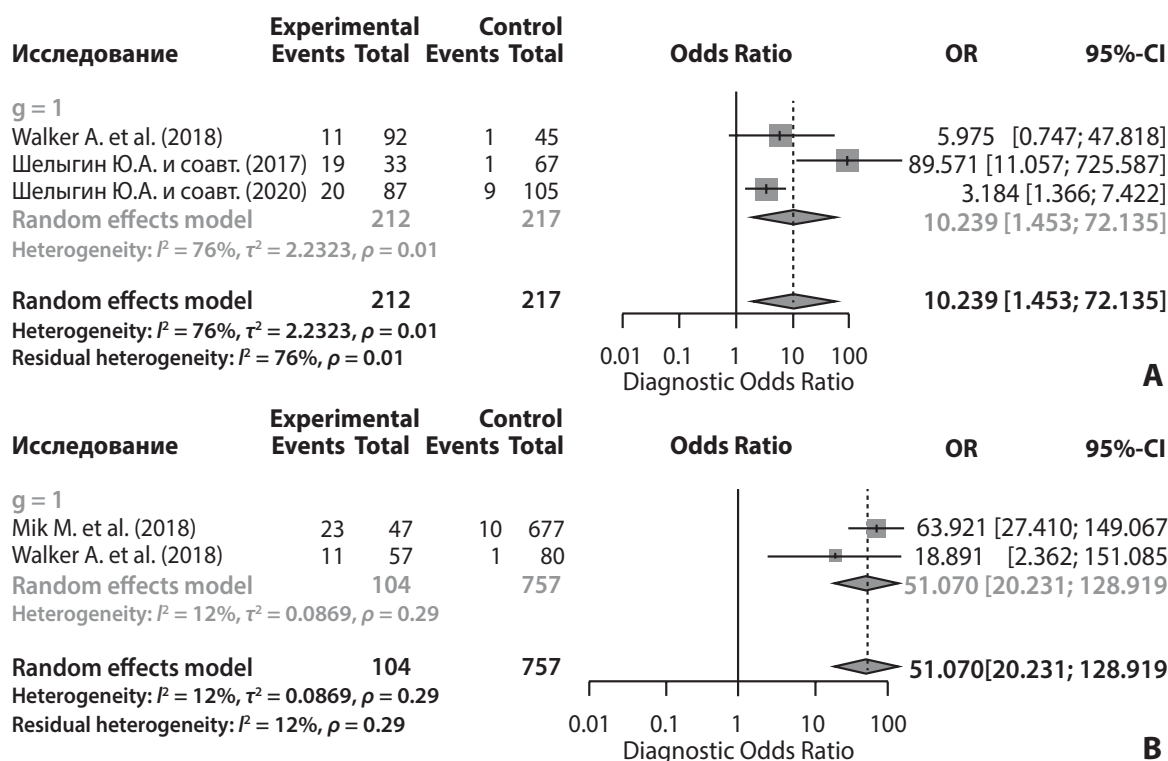
**Рисунок 3.** Объединенная ROC-кривая (SROC) (A), древовидные графики чувствительности (B) и специфичности (C) для НЛО в качестве предиктора инфекционных осложнений на 3 ПОД

**Figure 3.** Summarized ROC curve (SROC) (A), forest-plot of sensitivity (B) and specificity (C) for NLR as a predictor of infectious complications on the 3d POD



**Рисунок 4.** Объединенная ROC-кривая (SROC) (A), древовидные графики чувствительности (B) и специфичности (C) для НЛО в качестве предиктора инфекционных осложнений на 4 ПОД

**Figure 4.** Summarized ROC curve (SROC) (A), forest-plot of sensitivity (B) and specificity (C) for NLR as a predictor of infectious complications on the 4th POD



**Рисунок 5.** Древоидный график отношения шансов развития инфекционных осложнений при повышении НЛО на 3 (А) и 4 (В) ПОД  
**Figure 5.** Forest-plot of odds ratio after NLR rising on 3d (A) and 4th (B) POD

3,94 говорит о высокой доле вероятности отсутствия инфекционных осложнений (94,3%), в то время как при уровне НЛО выше 3,94 риск развития последних составляет 75,9% ( $p < 0,001$ ).

#### Метаанализ литературных и собственных данных

Данные исследований, вошедших в метаанализ, представлены в таблице 3.

При анализе показателей НЛО как маркера инфекционных осложнений на 3 день после операции данные по чувствительности, специфичности и АУС были представлены исследованиями Шельгина Ю.А. и соавт. (2017), Walker A. и соавт. (2018) и нашими данными – всего 428 случаев. При метаанализе данных нами было выявлено, что чувствительность метода составляет 86% (95% ДИ:63-95%), специфичность – 60% (95% ДИ:35-80%), а объединенная АУС составила – 0,671 ( $p = 0,014$ ) (Рис.3). Шансы развития инфекционных осложнений при показателе НЛО выше порогового значения (интервал 3,70-5,13) увеличиваются более, чем в 10 раз (ОШ=10,2, 95% ДИ:1,4-72) (Рис.5).

При анализе данных, соответствовавших 4 сут-

кам после операции, данные по чувствительности, специфичности и АУС были представлены в 2 исследованиях – Mik M. и соавт. (2018) и Walker A. и соавт. (2018) – 860 случаев. При метаанализе данных было выявлено, что чувствительность метода составляет 75% (95% ДИ:61-85%), специфичность – 87% (95% ДИ:50-98%), объединенная АУС составила – 0,71 ( $p = 0,02$ ) (Рис.4). Шансы развития инфекционных осложнений при показателе НЛО выше точки отсечки (интервал 6,15-6,50) увеличиваются более, чем в 50 раз (ОШ=51; 95% ДИ:20-128) (Рис.5).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство исследований НЛО направлено на оценку корреляции уровня биомаркера и онкологического прогноза заболеваний у больных колоректальным раком [13,14,22,23]. По данным последнего метаанализа Li H. и соавт. (2019), включившего в себя 5897 случаев, высокое предоперационное значение НЛО (точка отсечки уровня биомаркера – 5) имеет прямую



корреляционную связь с худшей общей (OR=1,66; 95%ДИ: 1,36-2,02, p<0,001) и безрецидивной выживаемостью (OR=1,54; 95%ДИ: 1,18-2,02, p=0,002).

Высокое предоперационное значение НЛО также имеет прямую корреляционную связь с риском развития осложнений после хирургического лечения. В исследовании Palin R. и соавт. (2017) продемонстрирована статистически значимая связь (p=0,031) между высоким значением биомаркера (точка отсечки уровня НЛО – 5) и увеличением риска летального исхода в течение 30 дней у больных, оперированных по поводу колоректального рака в экстренном порядке [24].

Высокий уровень НЛО после операции также ассоциирован с увеличением частоты развития осложнений [15,16]. В исследовании Benlice C. и соавт. (2019), было включено 1328 пациентов, подвергнутых оперативному вмешательству на толстой кишке. На 2 сутки после операции НЛО оказалось значимым предиктором всех осложнений без дифференцировки на инфекционные и неинфекционные при уровне биомаркера больше или равном 9,2 (ОШ=1,43; 95% ДИ: 1,03-1,98; p=0,02)[16].

В эру внедрения программы ускоренного выздоровления в хирургию, когда лечение в послеоперационном периоде направлено на безопасное сокращение времени пребывания пациента в стационаре, а послеоперационный койко-день составляет, в среднем, 5 дней [7], существует потребность в рутинном использовании недорогих, доступных и высокоинформативных биомаркеров безопасной выписки пациента из стационара. Одним из них, обладая высокой отрицательной значимостью (91,7% – на третий и 94,3% – на шестой ПОД), может служить НЛО.

Нами проведен систематический обзор литературы, по результатам которого было найдено 3 исследования, направленных на изучение предсказательной ценности НЛО в отношении инфекционных осложнений в колоректальной хирургии. После объединения данных найденных публикаций и собственной работы по результатам метаанализа на 3 ПОД при точке отсечки биомаркера в интервале 3,7-5,13 объединенная АУС составила 0,671, чувствительность – 86,3%, специфичность – 60,3% (p=0,014), а увеличение шанса развития инфекционного осложнения – более, чем в 10 раз (ОШ=10,2; 95% ДИ: 1,4-72). На 4 день после операции при НЛО в интервале 6,15-6,50 аналогичные показатели были равны 0,711, 75,4% и 87,5%, соответственно (p=0,002), а шанс развития инфекционного осложнения при значении биомаркера выше порогового возрастал более, чем в 50 раз (ОШ=51; 95% ДИ: 20-128). Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что с увеличением послеоперационного дня происходит увеличение точности теста и его специфичности, но вместе с этим снижается его

чувствительность, однако ввиду малого количества работ, вошедших в метаанализ, актуально продолжение проспективных исследований с целью оценки послеоперационного НЛО как предиктора инфекционных осложнений в колоректальной хирургии.

Другими распространенными биомаркерами в диагностике инфекционных осложнений являются С-реактивный белок (СРБ) и прокальцитонин (ПКТ). В метаанализе Cousin F. и соавт. (2016), включившем в себя 11 исследований и 2692 пациента, была оценена предсказательная ценность СРБ и ПКТ как маркеров органо-пространственной ИОХВ в колоректальной хирургии [25]. На 3 ПОД для СРБ объединенная АУС составила 0,8, чувствительность – 75%, специфичность – 72%, а для ПКТ – 0,78, 69% и 71%, соответственно. Сравнивая эти данные с полученными нами результатами, можно отметить более высокую точность и специфичность теста СРБ и ПКТ, но меньшую чувствительность. На 4 ПОД авторы получили схожие значения площади под кривой – 0,79 для СРБ и 0,72 для ПКТ, увеличение чувствительности теста – 78% для СРБ и ПКТ, но снижение специфичности до 71% для СРБ и 52% для ПКТ, что не коррелирует с полученными нами результатами. Анализируя значения АУС можно сказать, что СРБ и ПКТ имеют более высокую предсказательную ценность, чем НЛО как предиктора инфекционных осложнений в колоректальной хирургии (на 3 ПОД АУС для СРБ – 0,8, для ПКТ – 0,72, а для НЛО – 0,671, на 4 ПОД – 0,79, 0,72 и 0,711, соответственно). Однако, учитывая широкую доступность клинического анализа крови и его дешевизну, НЛО может стать новой опцией в структуре клинического анализа крови, позволяющей эффективно прогнозировать риск инфекционных осложнений в колоректальной хирургии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение является достоверным предиктором в прогнозировании риска развития инфекционных осложнений в колоректальной хирургии. Большая предсказательная ценность СРБ и ПКТ, высокая доступность и дешевизна выполнения клинического анализа крови, делают НЛО более перспективным тестом в клинической практике. Кроме того, низкие значения данного биомаркера являются значимым критерием ранней безопасной выписки пациентов из стационара.

### УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: Шельгин Ю.А., Ачкасов С.И., Сухина М.А.

Сбор и обработка материала: Сухина М.А., Набиев Э.Н.

Статистическая обработка: Пономаренко А.А., Набиев Э.Н., Нагудов А.А.

Написание текста: *Набиев Э.Н.*  
Редактирование: *Шельгин Ю.А., Ачкасов С.И., Сушков О.И., Москалев А.И.*

#### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Shelygin Yu.A., Achkasov S.I., Sukhina M.A.*

Collection and processing of the material: *Sukhina M.A., Nabiev E.N.*

Statistical processing: *Ponomarenko A.A., Nabiev E.N., Nagudov A.A.*

Writing of the text: *Nabiev E.N.*

Editing: *Shelygin Yu.A., Achkasov S.I., Sushkov O.I., Moskalev A.I.*

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

##### ORCID

Шельгин Ю.А. - <https://orcid.org/0000-0002-8480-9362>

Сушина М.А. - <https://orcid.org/0000-0003-4795-0751>  
Набиев Э.Н. - <https://orcid.org/0000-0003-3774-8795>  
Пономаренко А.А. - <https://orcid.org/0000-0001-7203-1859>

Нагудов М.А. - <https://orcid.org/0000-0002-0735-2100>

Сушков О.И. - <https://orcid.org/0000-0001-9780-7916>

Москалев А.И. - <https://orcid.org/0000-0002-3248-1633>

Ачкасов С.И. - <https://orcid.org/0000-0001-9294-5447>

##### ORCID

Shelygin Yu.A. <https://orcid.org/0000-0002-8480-9362>

Sukhina M.A. <https://orcid.org/0000-0003-4795-0751>

Nabiev E.N. <https://orcid.org/0000-0003-3774-8795>

Ponomarenko A.A. <https://orcid.org/0000-0001-7203-1859>

Nagudov M.A. <https://orcid.org/0000-0002-0735-2100>

Sushkov O.I. <https://orcid.org/0000-0001-9780-7916>

Moskalev A.I. <https://orcid.org/0000-0002-3248-1633>

Achkasov S.I. <https://orcid.org/0000-0001-9294-5447>

## ЛИТЕРАТУРА

1. Tiernan J, Cook A, Geh I, George B, et al. Use of a modified Delphi approach to develop research priorities for the association of coloproctology of Great Britain and Ireland. *Color Dis.* 2014;16(12):965–970. DOI: 10.1111/codi.12790
2. Шельгин Ю.А., Нагудов М.А., Пономаренко А.А., Рыбаков. Е.Г. Пероральная антибиотикопрофилактика в колоректальной хирургии (систематический обзор литературы и сетевой метаанализ). *Колопроктология.* 2018; №3, с.103–114. DOI:10.33878/2073-7556 2018-0-3 103-114
3. Artinyan A, Orcutt ST, Anaya DA, Richardson P, et al. Infectious Postoperative Complications Decrease Long-term Survival in Patients Undergoing Curative Surgery for Colorectal Cancer. *Ann Surg.* 2015;261(3):497–505. DOI: 10.1097/SLA.0000000000000854
4. McMillan DC, McArdle CS, Morrison DS. A clinical risk score to predict 3-, 5- and 10-year survival in patients undergoing surgery for Dukes B colorectal cancer. *BJO.* 2010;103(7):970–974. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605864
5. Povsic MK, Beovic B, Ihan A. Perioperative increase in neutrophil CD64 expression is an indicator for intra-abdominal infection after colorectal cancer surgery. *Radiol Oncol.* 2017;51(2):211–220. DOI:10.1515/raon-2016-0016
6. Zoucas E, Lydrup M-L. Hospital costs associated with surgical morbidity after elective colorectal procedures: a retrospective observational cohort study in 530 patients. *Patient Saf Surg.* 2014;8(1):2–9. DOI:10.1186/1754-9493-8-2
7. Ачкасов С.И., Суворегин Е.С., Сушков О.И., Лукашевич И.В., и соавт. Результаты внедрения программы ускоренного выздоровления в колопроктологии. *Колопроктология.* 2018; №2, с.32–38. DOI:10.33878/2073-7556-2018-0-2-32-38
8. Hewitt DB, Tannouri SS, Burkhardt RA, et al. Reducing colorectal surgical site infections: a novel, resident-driven, quality initiative. *Am J Surg.* 2017;213(1):36–42. DOI:10.1016/j.amjsurg.2016.04.009
9. Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, et al. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med.* 2000;28(8):2793–8. DOI: 10.1097/00003246-200008000-00019
10. Dovšak T, Ihan A, Didanovič V, Kansky A, et al. Effect of surgery and radiotherapy on complete blood count, lymphocyte subsets and

inflammatory response in patients with advanced oral cancer. *BMC Cancer.* 18(1):235. DOI: 10.1186/s12885-018-4136-9

11. Galizia G, Lieto E, Zamboli A, De Vita F, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio is a strong predictor of tumor recurrence in early colon cancers: A propensity score-matched analysis. *Surg (United States).* 2015;158(1):112–20. DOI:10.1016/j.surg.2015.02.006

12. Ding PR, An X, Zhang RX, Fang YJ, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts risk of recurrence following curative resection for stage IIA colon cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2010;25(12):1427–1433. DOI:10.1007/s00384-010-1052-0

13. Ashizawa N, Furuya S, Katsutoshi S, Sudo M, et al. Clinical significance of dynamic neutrophil-lymphocyte ratio changes in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2020;40(4):2311–2317. DOI:10.21873/anticancer.14197

14. Absenger G, Szkandera J, Pichler M, Stotz M, et al. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts clinical outcome in stage II and III colon cancer patients. *Br J Cancer.* 2013;109(2):395–400. DOI:10.1038/bjc.2013.346

15. Cook EJ, Walsh SR, Farooq N, Alberts JC, et al. Post-operative neutrophil-lymphocyte ratio predicts complications following colorectal surgery. *Int J Surg.* 2007;5(1):27–30. DOI:10.1016/j.ijssu.2006.05.013.

16. Benlice C, Onder A, Babazade R, Hrabe J, et al. Is the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Associated With Increased Morbidity After Colorectal Surgery? *Surg Laparosc Endosc Percutaneous Tech.* 2019;29(1):36–39. DOI:10.1097/SLE.0000000000000588

17. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008;36(5):309–332. DOI:10.1016/j.ajic.2008.03.002

18. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ.* 2009;339:b2700DOI:10.1136/bmj.b2700

19. Шельгин Ю.А., Тарасов М.А., Зароднюк И.В., Нагудов М.А., и соавт. Роль нейтрофильно-лимфоцитарного отношения в диагностике несостоятельности низких колоректальных анастомозов. *Колопроктология.* 2017; №4, с.74–81. DOI:10.33878/2073-7556-2017-0-4-74-81

20. Mik M, Dziki L, Berut M, Trzcinski R, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and C-Reactive Protein as Two Predictive Tools of Anastomotic Leak in Colorectal Cancer Open Surgery. *Dig Surg.* 2018;35(1):77-84. DOI:10.1159/000456081

21. Walker PA, Kunjuraman B, Bartolo DCC. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts anastomotic dehiscence. *ANZ J Surg.* 2018;88(9):939. DOI:10.1111/ans.14795

22. Satomi A, Murakami S, Ishida K, Mastuki M, et al. Significance of increased neutrophils in patients with advanced colorectal cancer. *Acta Oncol.* 1995;34(1):69-73. DOI:10.3109/02841869509093641

23. Li H, Zhao Y, Zheng F. Prognostic significance of elevated preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio for patients

with colorectal cancer undergoing curative surgery: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(3):e14126. DOI:10.1097/MD.00000000000014126

24. Palin RP, Devine AT, Hicks G, Burke D. Association of pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio and outcome in emergency colorectal cancer care. *Ann R Coll Surg Engl.* 2018;100(4):308-315. DOI:10.1308/rcsann.2017.0232

25. Cousin F, Ortega-Deballon P, Bourredjem A, et al. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin and C-reactive Protein for the Early Diagnosis of Intra-abdominal Infection After Elective Colorectal Surgery. *Ann Surg.* 2016;264(2):252-6. DOI:10.1097/SLA.0000000000001545

## REFERENCES

1. Tiernan J, Cook A, Geh I, George B, et al. Use of a modified Delphi approach to develop research priorities for the association of coloproctology of Great Britain and Ireland. *Color Dis.* 2014;16(12):965-970. DOI: 10.1111/codi.12790

2. Shelygin Yu.A., Nagudov M.A., Ponomarenko A.A., Rybakov E.G. Oral antibiotic prophylaxis in colorectal surgery (systematic review and network meta-analysis). *Koloproktologiya.* 2018; no.3, pp.103-114. (In Russ.). DOI:10.33878/2073-7556-2018-0-3-103-114

3. Artinyan A, Orcutt ST, Anaya DA, Richardson P, et al. Infectious Postoperative Complications Decrease Long-term Survival in Patients Undergoing Curative Surgery for Colorectal Cancer. *Ann Surg.* 2015;261(3):497-505. DOI: 10.1097/SLA.0000000000000854

4. McMillan DC, McArdle CS, Morrison DS. A clinical risk score to predict 3-, 5- and 10-year survival in patients undergoing surgery for Dukes B colorectal cancer. *BJS.* 2010;103(7):970-974. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605864

5. Povsic MK, Beovic B, Ihan A. Perioperative increase in neutrophil CD64 expression is an indicator for intra-abdominal infection after colorectal cancer surgery. *Radiol Oncol.* 2017;51(2):211-220. DOI:10.1515/raon-2016-0016.

6. Zoucas E, Lydrup M-L. Hospital costs associated with surgical morbidity after elective colorectal procedures: a retrospective observational cohort study in 530 patients. *Patient Saf Surg.* 2014;8(1):2-9. DOI:10.1186/1754-9493-8-2

7. Achkasov S.I., Surovegina E.S., Sushkov O.I., Lukashevych I.V., et al. Results of the implementation of the enhanced recovery program in coloproctology. *Koloproktologia.* 2018; no.2, pp.32-38. (In Russ.). DOI:10.33878/2073-7556-2018-0-2-32-38

8. Hewitt DB, Tannouri SS, Burkhart RA, et al. Reducing colorectal surgical site infections: a novel, resident-driven, quality initiative. *Am J Surg.* 2017;213(1):36-42. DOI:10.1016/j.amjsurg.2016.04.009

9. Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, et al. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med.* 2000;28(8):2793-8. DOI: 10.1097/00003246-200008000-00019

10. Dovšak T, Ihan A, Didanovič V, Kanský A, et al. Effect of surgery and radiotherapy on complete blood count, lymphocyte subsets and inflammatory response in patients with advanced oral cancer. *BMC Cancer.* 18(1):235. DOI: 10.1186/s12885-018-4136-9

11. Galizia G, Lieto E, Zamboli A, De Vita F, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio is a strong predictor of tumor recurrence in early colon cancers: A propensity score-matched analysis. *Surg (United States).* 2015;158(1):112-20. DOI:10.1016/j.surg.2015.02.006

12. Ding PR, An X, Zhang RX, Fang YJ, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts risk of recurrence following curative resection for stage IIA colon cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2010;25(12):1427-1433. DOI:10.1007/s00384-010-1052-0

13. Ashizawa N, Furuya S, Katsutoshi S, Sudo M, et al. Clinical significance of dynamic neutrophil-lymphocyte ratio changes in

patients with colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2020;40(4):2311-2317. DOI:10.21873/anticancer.14197.

14. Absenger G, Szkandera J, Pichler M, Stotz M, et al. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts clinical outcome in stage II and III colon cancer patients. *Br J Cancer.* 2013;109(2):395-400. DOI:10.1038/bjc.2013.346

15. Cook EJ, Walsh SR, Farooq N, Alberts JC, et al. Post-operative neutrophil-lymphocyte ratio predicts complications following colorectal surgery. *Int J Surg.* 2007;5(1):27-30. DOI:10.1016/j.ijsu.2006.05.013.

16. Benlice C, Onder A, Babazade R, Hrabec J, et al. Is the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Associated With Increased Morbidity After Colorectal Surgery? *Surg Laparosc Endosc Percutaneous Tech.* 2019;29(1):36-39. DOI:10.1097/SLE.0000000000000588

17. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008;36(5):309-332. DOI:10.1016/j.ajic.2008.03.002

18. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ.* 2009;339:b2700DOI:10.1136/bmj.b2700

19. Shelygin Yu.A., Tarasov M.A., Zarodnyuk I.V., Nagudov M.A., et al. The role of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in the diagnosis of low colorectal anastomosis leakage. *Koloproktologia.* 2017; no.4, pp.74-81. (In Russ.). DOI:10.33878/2073-7556-2017-0-4-74-81

20. Mik M, Dziki L, Berut M, Trzcinski R, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and C-Reactive Protein as Two Predictive Tools of Anastomotic Leak in Colorectal Cancer Open Surgery. *Dig Surg.* 2018;35(1):77-84. DOI:10.1159/000456081

21. Walker PA, Kunjuraman B, Bartolo DCC. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts anastomotic dehiscence. *ANZ J Surg.* 2018;88(9):939. DOI:10.1111/ans.14795

22. Satomi A, Murakami S, Ishida K, Mastuki M, et al. Significance of increased neutrophils in patients with advanced colorectal cancer. *Acta Oncol.* 1995;34(1):69-73. DOI:10.3109/02841869509093641

23. Li H, Zhao Y, Zheng F. Prognostic significance of elevated preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio for patients with colorectal cancer undergoing curative surgery: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(3):e14126. DOI:10.1097/MD.00000000000014126

24. Palin RP, Devine AT, Hicks G, Burke D. Association of pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio and outcome in emergency colorectal cancer care. *Ann R Coll Surg Engl.* 2018;100(4):308-315. DOI:10.1308/rcsann.2017.0232

25. Cousin F, Ortega-Deballon P, Bourredjem A, et al. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin and C-reactive Protein for the Early Diagnosis of Intra-abdominal Infection After Elective Colorectal Surgery. *Ann Surg.* 2016;264(2):252-6. DOI:10.1097/SLA.0000000000001545

# NEUTROPHIL-TO-LYMPHOCYTE RATIO AS AN INFECTIOUS COMPLICATIONS BIOMARKER IN COLORECTAL SURGERY (own data, systematic review and metaanalysis)

Yuri A. Shelygin, Marina A. Sukhina, Elnur N. Nabiev, Alexey A. Ponomarenko, Marat A. Nagudov, Alexey I. Moskalev, Oleg I. Sushkov, Sergey I. Achkasov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**BACKGROUND:** biological markers of inflammation belong to the main tool for predicting the risk of infectious complications at the preclinical stage. One of such biomarkers is the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), but an insufficient number of studies does not allow us to estimate its value as a predictor of infectious complications in colorectal surgery.

**AIM:** to determine the predictive value of NLR as a predictor of infectious complications after colorectal surgery.

**PATIENTS AND METHODS:** from January 2018 to December 2019 192 patients after colorectal surgery were included in the study. The rate of infectious complications, NLR levels differences in patients with and without infectious complications were determined, the area under the curve (AUC), sensitivity, specificity, negative and positive prognostic value of NLR on the 3rd (POD) and the 6th (POD) postoperative days were assessed. A literature search and meta-analysis of the data in accordance with the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses checklist (PRISMA) were conducted. The information was taken from the Medline electronic database and the E-library, scientific electronic library, among the English and Russian literature without publication date restrictions by the keywords: "neutrophil/lymphocyteratio", "neutrophil-to-lymphocyte ratio", "neutrophil lymphocyte ratio", "neutrophil ratio", "lymphocyte ratio", "colorectal", "colon", "rectum". The systematic review included all the studies related to assessing the prognostic value of NLR as a predictor of infectious complications in colorectal surgery.

**RESULTS:** infectious complications were detected in 29 (15.1%) of 192 patients. On the 3rd and the 6th POD, the patients with infectious complications had higher median NLR values than the patients without complications ( $p=0.0017$  for the 3rd POD;  $p=0.018$  for the 6th POD). On the 3rd POD, the area under the curve at the NLR cut-off point 5.13 was 0.644, sensitivity – 69.7%, specificity – 60.7% ( $p=0.019$ ). On the 6th POD, similar indicators at an NLR cut-off point of 3.94 were 0.75, 75.9% and 70.6%, respectively ( $p<0.001$ ). Four studies, which included 1,152 observations, were added in the meta-analysis. On the 3th POD, the summarized AUC was 0.671, sensitivity – 86.3%, specificity – 60.3% ( $p=0.014$ ). The risk of infection with a biomarker above the threshold increased by more than 10 times (OR=10.2; 95% CI: 1.4-72). On the 4th POD, the above indicators were 0.711, 75.4%, 87.5%, respectively ( $p=0.002$ ). Odds ratio was 51 (95% CI: 20-128).

**CONCLUSION:** the neutrophil-to-lymphocyte ratio is a reliable indicator for predicting the risk of developing infectious complications in colorectal surgery. In addition, the low values of this biomarker are an important criterion for the safe discharge of patients from hospital. The prevalence and availability of this test makes it easily feasible in clinical practice.

**[Key words: colorectal surgery, postoperative infectious complications, surgical site infection, inflammation biomarker, neutrophil-to-lymphocyte ratio]**

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Shelygin Yu.A., Sukhina M.A., Nabiev E.N., Ponomarenko A.A., Nagudov M.A., Moskalev A.I., Sushkov O.I., Achkasov S.I. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an infectious complications biomarker in colorectal surgery (own data, systematic review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 71-92. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-71-92>

Address for correspondence: Nabiev E.N., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: [elnur.n@hotmail.com](mailto:elnur.n@hotmail.com)

Received – 19.07.2020

Revised – 09.09.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## INTRODUCTION

Postoperative infectious morbidity (hereinafter referred to as infectious complications) is a crucial problem in colorectal surgery [1]. Their incidence can reach 20% [2], and in 3% of cases they can cause a mortality [3]. In patients operated on for

colorectal cancer, the anastomotic leakage, as one of the manifestations of an infectious complication, can lead to the local disease recurrence [4] and negatively affects the overall and disease-free survival [3,5]. It is worth noting that the development of an infectious complication increases the cost and duration of treatment [6,7]. Early detection and timely active treatment approaches can reduce



the consequences of infectious complications [8]. The use of inflammation biomarkers is one of the routine tools for monitoring the postoperative period. Surgical procedures are closely associated with the development of a systemic inflammatory response, characterized by metabolic and immunological changes [9]. During this period there is an increase in circulating levels of neutrophils and reduction of lymphocytes, leading to immunosuppression, as one of the key aspects of the development of infectious complications [10]. In this regard, the assessment of the level of neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) can serve as a simple and effective tool for identifying patients with a high risk of infectious complications. Most studies in colorectal surgery on this biomarker are devoted to estimate the role of NLR as a predictor of malignant neoplasms recurrence [11,12] and a marker of overall and disease-free survival in patients suffering from colorectal cancer [13,14]. There are a number of studies that characterize NLR as a marker of all postoperative complications in colorectal surgery, but their small number does not allow us to fully assess its clinical significance [15,16]. To answer this question, we conducted a prospective observational study to assess the predictive value of NLR as a biomarker of infectious complications in colorectal

surgery. Given the lack of a systematic review of the literature and meta-analysis of data on the above problem, we searched for all available similar studies, after which we did a cumulative meta-analysis of the literature and our own data.

## AIM

To assess the prognostic value of NLR as a predictor of infectious complications after colorectal surgery.

## PATIENTS AND METHODS

The study included all the patients who required surgery for colorectal cancer or underwent reversal of Hartmann's procedure in the absence of persistent foci of infection, complicated forms of inflammatory bowel diseases, autoimmune diseases, leukopenia or leukocytosis (white blood cell levels below  $4 \times 10^9/l$  and above  $10 \times 10^9/l$ ). The study was approved by the ethics committee of the A.N.Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology. In the period from January 2018 to December 2019, the study included 192 patients. In 148 (77.0%) bowel resection was performed for colorectal cancer, and 44 (23.0%) patients underwent reversal of Hartmann's procedure

**Table 1.** Characteristics of patients and surgery types

Indicator	Result
Gender, n (%)	
Males	90(46.9%)
Females	102(53.1%)
Age, years (Me, quartiles)	62 (53;75)
Body mass index, kg/m <sup>2</sup> (Me, quartiles)	27,7 (24.6;31.2)
Grade of anesthetic risk, n (%)	
I	85(44.3%)
II	51(26.6%)
III	46(23.9%)
IV	10(5.2%)
Surgery type, n (%)	
Right hemicolectomy	20(10.4%)
Left hemicolectomy	16(8.3%)
Sigmoid resection	27(14.1%)
Anterior resection of the rectum	26(13.6%)
Low anterior resection of the rectum	44(22.9%)
Intersphincteric resection of the rectum	12(6.2%)
Abdomino-perineal excision of the rectum	3(1.6%)
Reversal of Hartmann's procedure	44(22.9%)
Operation time, minutes (Me, quartiles)	200 (160;240)
Surgical approach, n (%)	
Open	108(56.3%)
Laparoscopic	84(43.7%)
Intraoperative bloodloss, ml (Me, quartiles)	60 (40;105)
Postoperative stay (days)(Me, quartiles)	8 (7;11)



(Table 1). The median age of the patients was 62 (53;75) years. There were no statistically significant differences in the gender distribution. Most patients had grade I anesthetic risk, and the average body mass index corresponded to normal values (Table1). There were also no significant differences in the type of surgical access (Table 1).

Neutrophils and lymphocytes in venous blood were counted on the first, third, and sixth postoperative days (POD) using the CELL-DYN Ruby device (Abbott, USA).

The neutrophil-lymphocyte ratio was calculated by dividing the absolute number of neutrophils by the absolute number of lymphocytes in the venous blood.

$$NLR = \frac{\text{Absolute number of neutrophils}}{\text{Absolute number of lymphocytes}}$$

Monitoring of infectious complications in the patients was carried out throughout the inpatient and outpatient stages of treatment until the 30th postoperative day. Surgical site infections (SSI) were registered according to the criteria of the US Center for disease control and prevention. Postoperative distant infection was diagnosed basing on the laboratory and instrumental tests [17].

The literature search and meta-analysis were done basing on the requirements of PRISMA [18] in the Medline electronic database among the English-language literature sources and the Russian-language publications in the scientific electronic library E-library without restrictions on the publication date (search end on 04.06.2020) by the keywords: "neutrophil/lymphocyte ratio", "neutrophil-to-lymphocyte ratio", "neutrophil lymphocyte ratio", "neutrophil ratio", "lymphocyte ratio", "colorectal", "colon", "rectum", "neutrophil-lymphocyte ratio", "neutrophil-lymphocyte index". The systematic review includes all the studies that assess the prognostic value of NLR as a predictor of infectious complications in colorectal surgery.

Using the PubMed search system in the Medline database, the search system of E-library (<http://www.elibrary.ru/>) for queries containing the above keywords, 463 publications were found. During the screening, 87 papers that correspond to the study topic were selected. Then the literature reviews were excluded as follows: 7 reviews, 71 articles on the NLR assessment as a predictor of overall and disease-free survival and 6 articles on the NLR as a biomarker of all postoperative morbidity without division into infectious and non-infectious complications.

Based on the results of the systematic review of the literature, 3 studies that assess NLR as a predictor of infectious complications were selected. In addition,

our own data (192 patients) were also included. The results of treatment of 1,152 patients were subjected to the meta-analysis (Fig.1) [19-21].

### Statistical Processing of Results

The patients' data was entered in an Excel spreadsheet. The statistical processing and graphical presentation of the material were performed using SPSS Statistics 22.0, MedCalc version 19, Review Manager 5.4, and the RStudio electronic environment for Windows. The comparisons of the average values were made using an unpaired t-test with the Student's correction for small samples. The Mann-Whitney test was used for nonparametric distribution in the aggregate. Determination of the cut-off points of NLR values on the 3d and the 6th postoperative days as a predictor of infectious complications was performed using ROC-analysis (Receiver Operating Characteristic). The best sensitivity and specificity values were determined based on the Euden index. To assess the predictive value of NLR relative to the threshold level, sensitivity, specificity, positive and negative predictive significance were calculated. The results were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

### Our Own Study

Infectious complications were detected in 29 (15.1%) of 192 patients included in the study protocol (Table2). Almost half of the cases (44.9%; 13/29) in the structure of complications were organ-space SSI, most of which was represented by the anastomotic leakage (92.3%; 12/13). Two (6.9%) of 29 patients were diagnosed with a combined infection in the form of a combination of

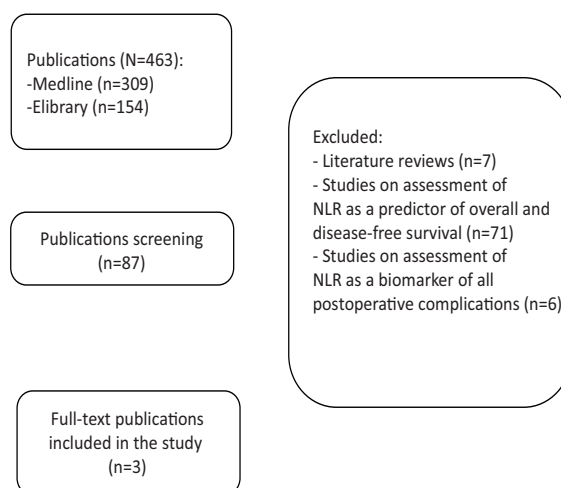
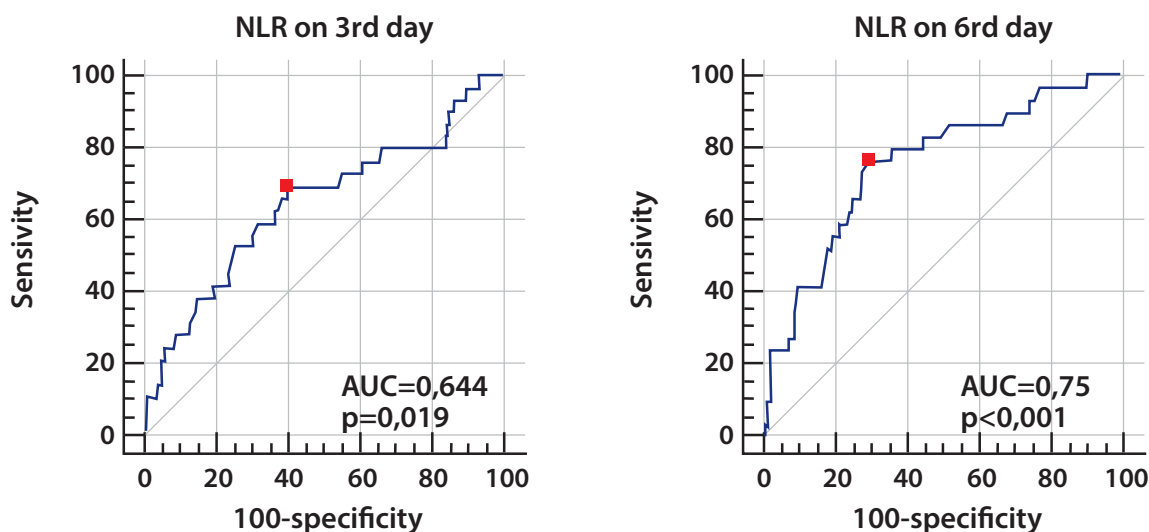


Figure 1. Literature search diagram

**Table 2.** Types of infectious complications

Complication type	n (%)
Organ-space SSI	13(44.9%)
Superficial SSI	9(31%)
Postoperative distant infection	5(17.2%)
Combined infectious complication	2(6.9%)
Total	29(100%)



**Figure 2.** ROC curve for the NLR as a predictor of infectious complications on the 3d POD and on the 6th POD

superficial SSI and postoperative distant infection. The mean infectious complications was 7 (4;8) days after surgery.

When comparing the median levels of NLR in patients with and without infectious complications, a significant increase in the level of the biomarker was obtained for the 3d ( $p=0.013$ ) and the 6th ( $p<0.001$ ) POD. On the 3d POD, the median value of NLR in patients with infectious complications was 7(4.20;9.44), and on the 6th POD– 5 (4;6.7). For the patients without infectious complications, the biomarker median was 4.8 (3.37;6.95) for the 3d POD and 2.95 (2.28;4.25) for the 6th POD.

ROC-analysis of the level of changes in NLR on the 3d POD showed the area under the curve (AUC) equal to 0.64, which corresponds to a satisfactory data analysis model (Fig.2). In accordance with the constructed ROC curve, the cut-off point for NLR was equal to 5.13. On the 3d day after the surgery the sensitivity of NLR at the level of 5.13 was 69% (95% CI:49.2-84.7%), specificity - 60.7% (95% CI:52.8 – 68.3%), negative prognostic significance-91.7% (95% CI:86.3 – 95%), and positive prognostic significance - 23.8% (95%

CI:18.6 – 29.9%). According to the data obtained, the value of NLR on the 3d POD less than 5.13 may indicate an extremely low risk of PIC - 8.3%, while if the value of NLR is more than 5.13, the risk of developing the latter is 69% ( $p=0.019$ ).

On the 6th postoperative day AUC was 0.75, which proves the good quality of the data analysis model (Fig.2). The NLR sensitivity on the 6th POD at the cut-off level of biomarker – 3.94 was 75.9% (95% CI: 44.4 – 97.5%), the specificity of 70.6% (95% CI:84.5 – 98.2%), the negative predictive value was 94.3% (95% CI: 89.5 – 96.9%) and the positive predictive value - 31.4% (95% CI: 25.1-38.6%).

According to the results, on the 6th POD, the value of NLR less than 3.94 indicates a high probability of absence of infectious complications (94.3%), while at the level of NLR above 3.94, the risk of developing the latter is 75.9% ( $p<0.001$ ).

#### Meta-analysis of Literature and Own Data

The data from the studies included in the meta-analysis is presented in table 3.

When analyzing NLR indicators as a marker of infectious

**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies

Authors	Year	Study type	Number of cases	Days of NLR assessment	Primary point of the study
Mik et al. (2018)	2018	Prospective observational	724	4	Organ-space SSI
Walker et al. (2018)	2018	Case-control study	136	1-5	Organ-space SSI
Shelygin et al. (2017)	2017	Prospective observational	100	3	Organ-space SSI
Shelygin et al. (2020)	2020	Prospective observational	192	3 and 6	Infectious complications

**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies (continuation 1)

Authors	Colon surgeries	Rectal surgeries	Others	Number of infectious complications	Infectious complications rate (%)
Mik et al. (2018)	419	305	0	33	4,6
Walker et al. (2018)	39	84	13	11	8,1
Shelygin et al. (2017)	0	100	0	20	20
Shelygin et al. (2020)	107	85	0	29	15,1

**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies (continuation 2)

Authors	AUC NLR 3 <sup>rd</sup> day	Cut-off point NLR 3 <sup>rd</sup> day	Sensitivity NLR (%) 3 <sup>rd</sup> day	Specificity NLR (%) 3 <sup>rd</sup> day	p, NLR 3 <sup>rd</sup> day
Mik et al. (2018)	No data	НД	НД	НД	НД
Walker et al. (2018)	0,699	5,05	100	39,2	0,013
Shelygin et al. (2017)	0,65	3,7	95	83	0,26
Shelygin et al. (2020)	0,644	5,13	69	60,7	0,019

**Table 3.** Characteristics of the included in the meta-analysis studies (continuation 3)

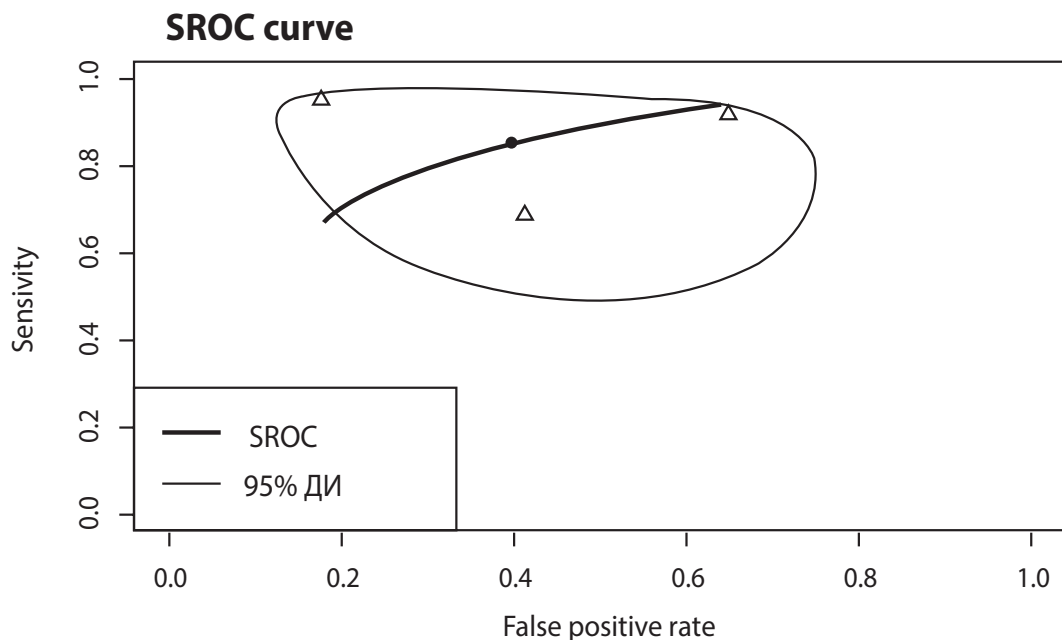
Authors	AUC NLR 4 <sup>th</sup> day	Cut-off point NLR 4 <sup>th</sup> day	Sensitivity NLR (%) 4 <sup>th</sup> day	Specificity NLR (%) 4 <sup>th</sup> day	p, NLR 4 <sup>th</sup> day
Mik et al. (2018)	0,68	6,50	69	96,5	No data
Walker et al. (2018)	0,78	6,15	100	61,8	0,009
Shelygin et al. (2017)	No data	No data	No data	No data	No data
Shelygin et al. (2020)	No data	No data	No data	No data	No data

complications on the 3d day after surgery, the data on sensitivity, specificity and AUC was presented in the studies by Shelygin Yu.A. et al. (2017), Walker A. et al. (2018) and our data – in total of 428 cases. In the meta-analysis, it was found that the sensitivity of the method was 86% (95% CI: 63-95%), the specificity was 60% (95% CI:35-80%), and the combined AUC was 0.671 (p=0.014) (Fig.3). The chances of developing infectious complications when the NLR indicator is higher than the threshold value (interval 3.70-5.13) increase by more than 10 times (OR=10.2; 95% CI:1.4-72) (Fig.5). When analyzing the data corresponding to the 4th day after surgery, the data on sensitivity, specificity, and AUC was presented in 2 studies by Mik M. et al. (2018) and Walker A. et al. (2018) – in total of 860 cases. The meta-analysis data revealed that the sensitivity of the method was 75% (95%CI: 61-85%), specificity

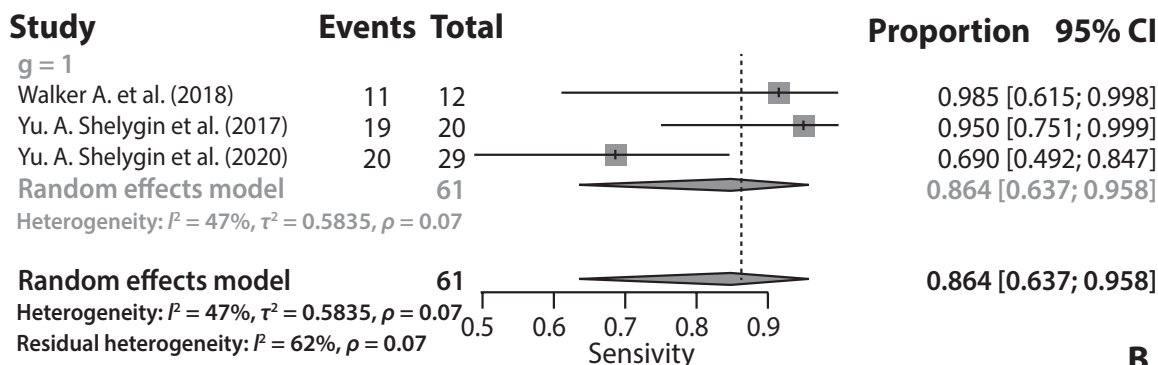
was 87% (95%CI:50-98%), and the combined AUC was 0.71(p=0.02) (Fig.4). The chances of developing infectious complications when the NLR indicator is higher than the cut-off point (interval 6.15-6.50) increase by more than 50 times (OR=51;95% CI:20-128) (Fig.5).

## DISCUSSION

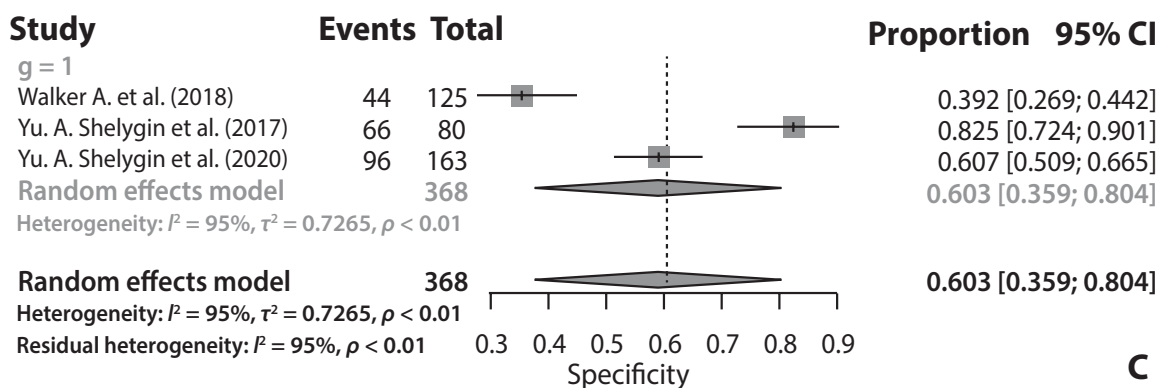
Most NLR studies are aimed at assessing the correlation of the biomarker level and cancer prognosis in patients with colorectal cancer [13,14,22,23]. According to the latest meta-analysis by Li H. et al. (2019), which included 5,897 cases, a high preoperative NLR value (biomarker cut-off point - 5) has a direct correlation with the worst overall (OR=1.66; 95% CI: 1.36–2.02, p<0.001)



**A**

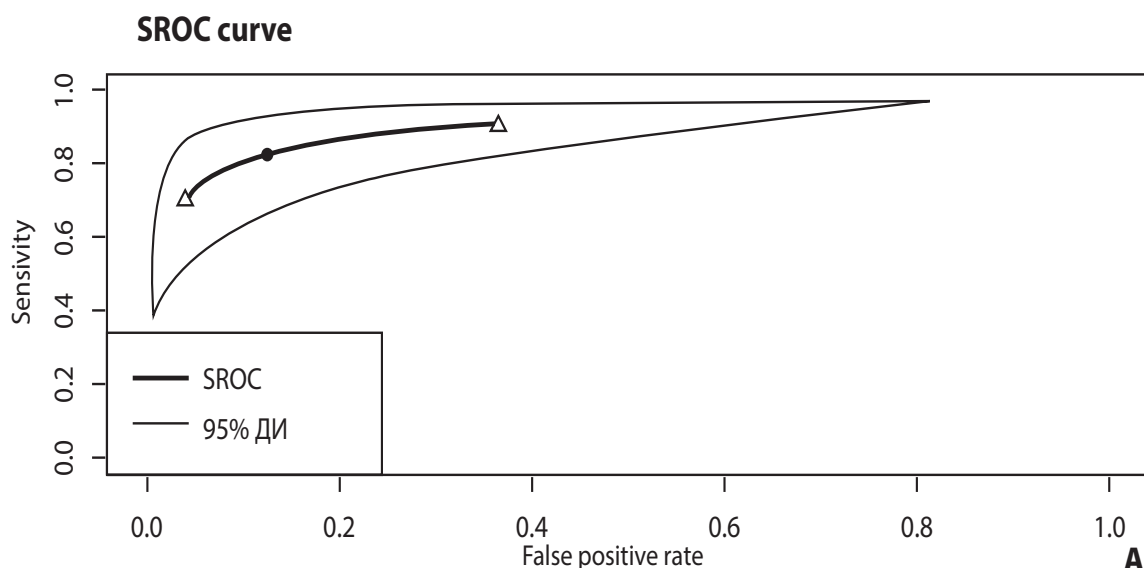


**B**

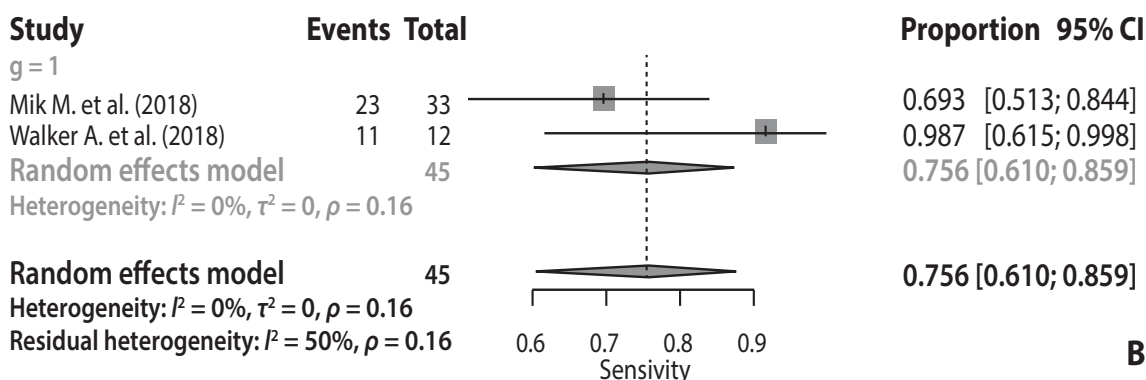


**C**

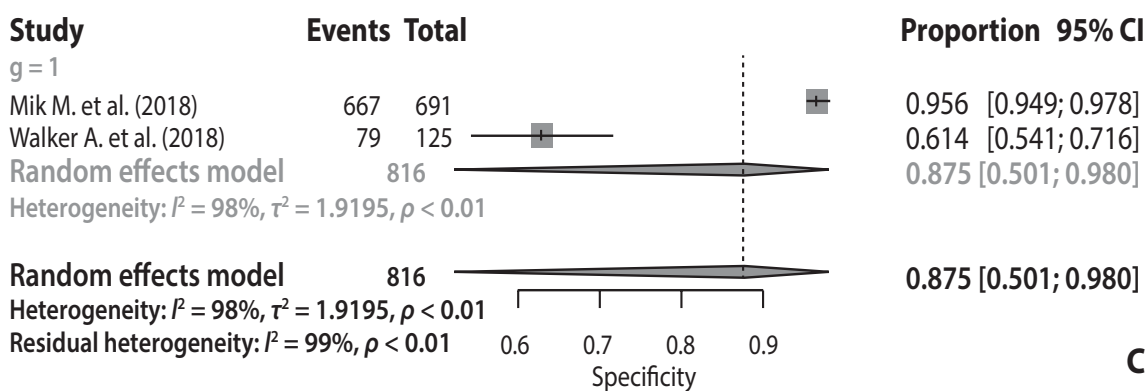
**Figure 3.** Summarized ROC curve (SROC) (A), forest-plot of sensitivity (B) and specificity (C) for NLR as a predictor of infectious complications on the 3d POD



**A**



**B**



**C**

**Figure 4.** Summarized ROC curve (SROC) (A), forest-plot of sensitivity (B) and specificity (C) for NLR as a predictor of infectious complications on the 4th POD



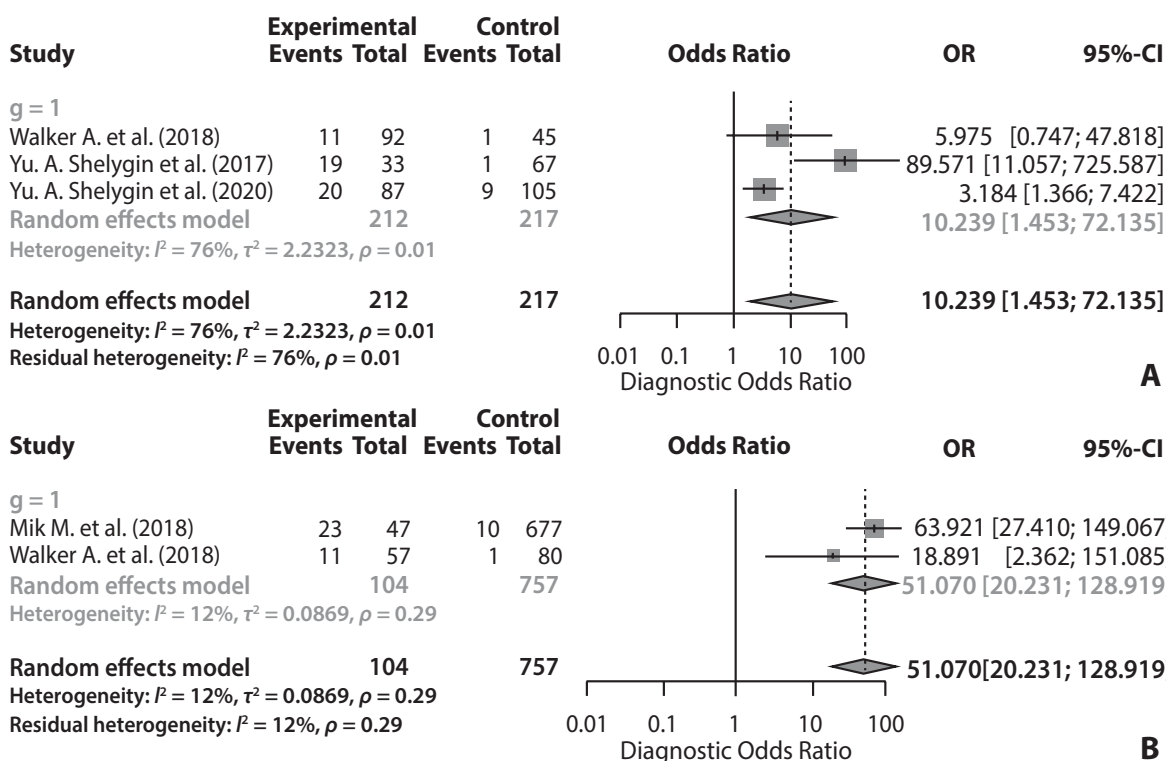


Figure 5. Forest-plot of odds ratio after NLR rising on 3d (A) and 4th (B) POD

and disease-free survival (OR=1.54; 95% CI: 1.18-2.02,  $p=0.002$ ).

A high preoperative value of NLR also has a direct correlation with the risk of complications after surgeries. The study by Palin R. et al. (2017) demonstrated a statistically significant correlation ( $p=0.031$ ) between a high biomarker value (the cut-off point of the NLR - 5 level) and an increased risk of death within 30 days in patients operated on for colorectal cancer in an emergency [24].

A high level of NLR after surgery is also associated with an increase in the incidence of complications [15,16]. In the study by Benlice C. et al. (2019), 1,328 patients who underwent colorectal surgery were included. On the 2nd day after the surgery, NLR was a significant predictor of all complications without differentiation into infectious and non-infectious with a biomarker level greater than or equal to 9.2 (OR=1.43; 95% CI: 1.03-1.98;  $p=0.02$ ) [16].

In the time of introduction of the accelerated recovery program in surgery, when treatment in the postoperative period is aimed at safely reducing the patient's stay in hospital, and the postoperative hospital stay is on average

5 days [7], there is a need for routine use of inexpensive, accessible and highly informative biomarkers for safe discharge of the patient.

NLR, having a high negative significance (91.7% on the third and 94.3% on the sixth POD), can be one of them. We made a systematic review of the literature, based on the results of which 3 studies aimed at estimation the predictive value of NLR in relation to infectious complications in colorectal surgery were found.

After combining the data from the found publications and our own study based on the results of the 3d POD of the meta-analysis at the biomarker cut-off point in the range of 3.7-5.13, the combined AUC was 0.671, sensitivity - 86.3%, specificity - 60.3% ( $p=0.014$ ), and the increase in the chance of developing an infectious complication was more than 10 times (OR=10.2; 95% CI: 1.4-72).

On the 4th day after the surgery with NLR in the range of 6.15-6.50, the similar indicators were equal to 0.711, 75.4% and 87.5%, respectively ( $p=0.002$ ), and the chance of developing an infectious complication with a biomarker value above the threshold increased more than 50 times (OR=51; 95% CI: 20-128). The results can

indicate that with an increase of postoperative days there is an increase in test accuracy and specificity, but its sensitivity is reduced. However, due to the small number of the works included in the meta-analysis, there is the need for continuation of a prospective study to assess postoperative NLR as a predictor of infectious complications in colorectal surgery.

The other common biomarkers in the diagnosis of infectious complications are C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT).

The meta-analysis by Cousin F. et al. (2016), which included 11 studies and 2,692 patients, assessed the predictive value of CRP and PCT as markers of organ-space SSI in colorectal surgery [25]. On the 3d POD for CRP, the combined AUC for CRP was 0.8, sensitivity 75%, specificity 72%, and for PCT 0.78, 69% and 71%, respectively. Comparing these data with the results obtained in the study, we can note a higher accuracy and specificity of the CRP and PCT test, but lower sensitivity. On the 4th POD the authors obtained similar values of the area under the curve (AUC) – 0.79 for CRP and 0.72 for PCT, an increase in the sensitivity of the test – 78% for CRP and PCT, but a decrease in specificity to 71% for CRP and 52% for PCT, which does not correlate with our results. Analyzing the AUC values, we can say that CRP and PCT have a higher predictive value than NLR as a predictor of infectious complications in colorectal surgery (on the 3d POD AUC for CRP – 0.8, for PCT– 0.72, and for NLR – 0.671, on the 4th POD - 0.79, 0.72 and 0.711, respectively). However, given the wide availability of clinical blood test and its low cost, NLR can become a new option in the structure of clinical blood test, allowing to effectively predict the risk of infectious complications in colorectal surgery.

## REFERENCES

1. Tiernan J, Cook A, Geh I, George B, et al. Use of a modified Delphi approach to develop research priorities for the association of coloproctology of Great Britain and Ireland. *Color Dis.* 2014;16(12):965–970. DOI: 10.1111/codi.12790
2. Shelygin Yu.A., Nagudov M.A., Ponomarenko A.A., Rybakov E.G. Oral antibiotic prophylaxis in colorectal surgery (systematic review and network meta-analysis). *Koloproktologiya.* 2018; no.3, pp.103–114. (In Russ.). DOI:10.33878/2073-7556-2018-0-3-103-114
3. Artinyan A, Orcutt ST, Anaya DA, Richardson P, et al. Infectious Postoperative Complications Decrease Long-term Survival in Patients Undergoing Curative Surgery for Colorectal Cancer. *Ann Surg.* 2015;261(3):497–505. DOI: 10.1097/SLA.0000000000000854
4. McMillan DC, McArdle CS, Morrison DS. A clinical risk score to predict 3-, 5- and 10-year survival in patients undergoing surgery for Dukes B colorectal cancer. *BJS.* 2010;103(7):970–974. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605864
5. Povsic MK, Beovic B, Ihan A. Perioperative increase in neutrophil CD64 expression is an indicator for intra-abdominal infection after colorectal cancer surgery. *Radiol Oncol.* 2017;51(2):211–220. DOI:10.1515/raon-2016-0016.

## CONCLUSION

The neutrophil-lymphocyte ratio is a reliable predictor of the infectious complications risk in colorectal surgery. Despite the great predictive value of CRP and PCT, the high availability and low cost of clinical blood test make NLR a more promising test in clinical practice. In addition, low values of this biomarker are a significant criterion for early safe discharge of patients.

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Shelygin Yu.A., Achkasov S.I., Sukhina M.A.*

Collection and processing of the material: *Sukhina M.A., Nabiev E.N.*

Statistical processing: *Ponomarenko A.A., Nabiev E.N., Nagudov A.A.*

Writing of the text: *Nabiev E.N.*

Editing: *Shelygin Yu.A., Achkasov S.I., Sushkov O.I., Moskalev A.I.*

### ORCID

Shelygin Yu.A. <https://orcid.org/0000-0002-8480-9362>

Sukhina M.A. <https://orcid.org/0000-0003-4795-0751>

Nabiev E.N. <https://orcid.org/0000-0003-3774-8795>

Ponomarenko A.A. <https://orcid.org/0000-0001-7203-1859>

Nagudov M.A. <https://orcid.org/0000-0002-0735-2100>

Sushkov O.I. <https://orcid.org/0000-0001-9780-7916>

Moskalev A.I. <https://orcid.org/0000-0002-3248-1633>

Achkasov S.I. <https://orcid.org/0000-0001-9294-5447>

6. Zoucas E, Lydrup M-L. Hospital costs associated with surgical morbidity after elective colorectal procedures: a retrospective observational cohort study in 530 patients. *Patient Saf Surg.* 2014;8(1):2–9. DOI:10.1186/1754-9493-8-2
7. Achkasov S.I., Surovegin E.S., Sushkov O.I., Lukashevych I.V., et al. Results of the implementation of the enhanced recovery program in coloproctology. *Koloproktologia.* 2018; no.2, pp.32–38. (In Russ.). DOI:10.33878/2073-7556-2018-0-2-32-38
8. Hewitt DB, Tannouri SS, Burkhart RA, et al. Reducing colorectal surgical site infections: a novel, resident-driven, quality initiative. *Am J Surg.* 2017;213(1):36–42. DOI:10.1016/j.amjsurg.2016.04.009
9. Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, et al. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med.* 2000;28(8):2793–8. DOI: 10.1097/00003246-200008000-00019
10. Dovšak T, Ihan A, Didanovič V, Kansky A, et al. Effect of surgery and radiotherapy on complete blood count, lymphocyte subsets and inflammatory response in patients with advanced oral cancer. *BMC Cancer.* 18(1):235. DOI: 10.1186/s12885-018-4136-9

11. Galizia G, Lieto E, Zamboli A, De Vita F, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio is a strong predictor of tumor recurrence in early colon cancers: A propensity score-matched analysis. *Surg (United States)*. 2015;158(1):112–20. DOI:10.1016/j.surg.2015.02.006
12. Ding PR, An X, Zhang RX, Fang YJ, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts risk of recurrence following curative resection for stage IIA colon cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2010;25(12):1427–1433. DOI:10.1007/s00384-010-1052-0
13. Ashizawa N, Furuya S, Katsutoshi S, Sudo M, et al. Clinical significance of dynamic neutrophil-lymphocyte ratio changes in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2020;40(4):2311–2317. DOI:10.21873/anticancer.14197.
14. Absenger G, Szkandera J, Pichler M, Stotz M, et al. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts clinical outcome in stage II and III colon cancer patients. *Br J Cancer*. 2013;109(2):395–400. DOI:10.1038/bjc.2013.346
15. Cook EJ, Walsh SR, Farooq N, Alberts JC, et al. Post-operative neutrophil-lymphocyte ratio predicts complications following colorectal surgery. *Int J Surg*. 2007;5(1):27–30. DOI:10.1016/j.ijsu.2006.05.013.
16. Benlice C, Onder A, Babazade R, Hrabe J, et al. Is the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Associated With Increased Morbidity After Colorectal Surgery? *Surg Laparosc Endosc Percutaneous Tech*. 2019;29(1):36–39. DOI:10.1097/SLE.0000000000000588
17. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36(5):309–332. DOI:10.1016/j.ajic.2008.03.002
18. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ*. 2009;339:b2700DOI:10.1136/bmj.b2700
19. Shelygin Yu.A., Tarasov M.A., Zarodnyuk I.V., Nagudov M.A., et al. The role of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in the diagnosis of low colorectal anastomosis leakage. *Koloproktologia*. 2017; no.4, pp.74–81. (In Russ.). DOI:10.33878/2073-7556-2017-0-4-74-81
20. Mik M, Dziki L, Berut M, Trzcinski R, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and C-Reactive Protein as Two Predictive Tools of Anastomotic Leak in Colorectal Cancer Open Surgery. *Dig Surg*. 2018;35(1):77–84. DOI:10.1159/000456081
21. Walker PA, Kunjuraman B, Bartolo DCC. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts anastomotic dehiscence. *ANZ J Surg*. 2018;88(9):939. DOI:10.1111/ans.14795
22. Satomi A, Murakami S, Ishida K, Mastuki M, et al. Significance of increased neutrophils in patients with advanced colorectal cancer. *Acta Oncol*. 1995;34(1):69–73. DOI:10.3109/02841869509093641
23. Li H, Zhao Y, Zheng F. Prognostic significance of elevated preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio for patients with colorectal cancer undergoing curative surgery: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(3):e14126. DOI:10.1097/MD.00000000000014126
24. Palin RP, Devine AT, Hicks G, Burke D. Association of pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio and outcome in emergency colorectal cancer care. *Ann R Coll Surg Engl*. 2018;100(4):308–315. DOI:10.1308/rcsann.2017.0232
25. Cousin F, Ortega-Deballon P, Bourredjem A, et al. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin and C-reactive Protein for the Early Diagnosis of Intra-abdominal Infection After Elective Colorectal Surgery. *Ann Surg*. 2016;264(2):252–6. DOI:10.1097/SLA.0000000000001545



## Скрытая кровь в кале

иммунохимическое экспресс-исследование

### СКРИНИНГ скрытой крови в кале (СКК/FOB)

«Порядок проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения»

(утв. приказом МЗ РФ от 13.03.2019 N124н) предусматривает регулярное исследование кала на скрытую кровь иммунохимическим методом (для граждан в возрасте от 49 до 73 лет 1 раз в 2 года)

Данное исследование присутствует и в «Номенклатуре медицинских услуг» (утв. приказом МЗ РФ от 13.10.2017 г. № 804н):

- Исследование кала на скрытую кровь (A09.19.001)
- Экспресс-исследование кала на скрытую кровь иммунохроматографическим методом (A09.19.001.001)

#### Количественный тест на СКК

Экспресс-анализатор иммунохроматографический  
Easy Reader+ для количественного считывания  
результатов иммунохроматографических кассет

- Цветной сенсорный дисплей 4,3"
- Встроенный термопринтер
- Возможна автономная работа от аккумуляторов.
- Вес - 1,5 кг.
- Габариты: 15x18x17 см.

#### Скрытая кровь в кале тест для экспресс-анализатора

- Упаковка: 20 кассет, 20 устройств для сбора проб
- Аналитическая чувствительность – 5 нг/мл при Рекомендуемом пороговом уровне 100 нг/мл.
- Линейный диапазон количественных результатов – от 10 до 500 нг/мл; полуколичественные результаты: 0-5; 5-10; 500-5000; свыше 5000 нг/мл.
- Время анализа – 10 мин.

Только для использования на на экспресс-анализаторе  
иммунохроматографическом Easy Reader/ Easy Reader+



# ЭЗИКЛЕН®

— Набор\* для очищения кишечника —

## Удобный способ применения повышает эффективность очистки кишечника



Оптимальная приверженность к терапии препаратом Эзиклен доказана и подтверждена в рутинной практике<sup>1</sup>

- 1 ЛИТР раствора осмотического средства<sup>2</sup>
- Мерный стакан для приготовления раствора в наборе<sup>2</sup>
- Фруктовый вкус и запах<sup>2</sup>



Доказано высокое качество очистки кишечника, в т.ч. в труднодоступных правых отделах толстой кишки<sup>3</sup>



Благоприятный профиль безопасности Эзиклена доказан и подтвержден в рутинной практике<sup>4,5</sup>



Образ является вымышленным. Все совпадения случайны.

## УВИДЕТЬ ВСЕ, ЧТО НУЖНО УВИДЕТЬ



\* Согласно регистрационному удостоверению лекарственного препарата для медицинского применения Эзиклен® № ЛП-004957, зарегистрирована комплектность в следующем составе: концентрат для приготовления раствора для приема внутрь (флакон) 176 мл x 2 (пачка картонная) (в комплекте с полипропиленовым стаканом).

**Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата ЭЗИКЛЕН® (EZICLEN®).** Регистрационный номер: ЛП-004957. МНН: калия сульфат + магния сульфат + натрия сульфат. **Форма выпуска:** концентрат для приготовления раствора для приема внутрь. **Фармакотерапевтическая группа:** осмотическое слабительное средство. Код АТХ: A06AD10. Фармакодинамические свойства: действие препарата за счет ограниченного по насыщенности процесса активного транспорта сульфатов. Осмотический эффект неабсорбированных сульфатов и прием внутрь значительного объема воды вызывают задержку воды в кишечнике, что обеспечивает слабительное действие, вызывая обильную водянистую диарею, и приводит к очищению кишечника. Фармакокинетические свойства: основным путем выведения сульфатов является выведение кишечником (около 70% от принятого количества); абсорбированные сульфаты выводятся преимущественно почками. **Показания к применению:** для очищения толстой кишки у взрослых пациентов при подготовке к эндоскопическому и радиологическому исследованию толстой кишки или к хирургическим вмешательствам, требующим отсутствия содержимого в толстой кишке. **Противопоказания:** гиперчувствительность к действующим веществам или к любому из компонентов препарата; желудочно-кишечная обструкция или подозрение на нее; перфорация кишечника; нарушения опорожнения желудка (в том числе гастропарез); кишечная непроходимость; токсический колит или токсический мегаколон; профузная рвота, дегидратация тяжелой степени; застойная сердечная недостаточность, асцит; тяжелая почечная недостаточность (скорость клубочковой фильтрации < 30 мл/мин/1,73 м²); активная фаза воспалительных заболеваний кишечника (таких как болезнь Крона, язвенный колит); беременность и период грудного вскармливания. **Способ применения и дозы:** прием двух флаконов препарата в разведенном виде и дополнительного объема воды (в режиме дробного или единовременного применения). Перед приемом препарата необходимо ознакомиться с полной инструкцией по медицинскому применению. **Побочные действия:** дискомфорт, вздутие живота, боль в животе, тошнота, рвота и другие. Условия хранения: при температуре не выше 30 °С, в недоступном для детей месте. **Срок годности:** 3 года. **Условия отпуска:** отпускают без рецепта. **Полная информация содержится в инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Эзиклен®.** **Производитель:** Бюфур Ипсен Индастри. 28100 Франция, Дре, Рю Эт Виртон. **Организация, принимающая претензии от потребителей:** ООО «Ипсен», 109147, Москва, ул. Таганская, 17-23; тел. (495) 258-54-00, факс (495) 258-54-01, ООО «Ипсен», www.ipсен.ru.

Информация о лекарственном средстве предоставляется медицинским работникам в соответствии с пп. 4 п. 1 и п. 2 ст. 74 ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» для информирования пациентов об аналогичных лекарственных средствах, имеющихся в обращении по данной нозологии. Имеются противопоказания. Перед использованием следует ознакомиться с инструкцией или обратиться за консультацией к специалисту. ООО «Ипсен», 109147, г. Москва, ул. Таганская, д. 17-23, этаж 2, ком. 10-27, 30-39 4/л-14, тел.: +7 (495) 258-54-00, факс: +7 (495) 258-54-01, www.ipсен.ru. Служба медицинской поддержки по препаратам компании «Ипсен» (в рамках инструкции по применению): тел. 8 (800) 700-40-25 (бесплатный номер телефона по всей Российской Федерации); электронная почта: Medical.Information.Russia.CIS@ipсен.com. Контакты для информации о нежелательных явлениях/реакции, претензиях на качество продуктов компании: +7 (916) 999-30-28 (круглосуточно), электронная почта: pharmacovigilance.russia@ipсен.com.

Источники информации

1. ENCEPP 2019. Data on file and available at <http://www.encepp.eu/encepp/viewResource.htm?id=30186>. Last access on July 2019.
2. Инструкция по медицинскому применению препарата Эзиклен®, регистрационное удостоверение № ЛП-004957.
3. Di Palma JA et al., A Randomized Clinical Study Evaluating the Safety and Efficacy of a New, Reduced-Volume, Oral Sulfate Colon-Cleansing Preparation for Colonoscopy. Am J Gastroenterol. 2009;104: 2275-84.
4. Douglas K, Rex et al. A randomized clinical study comparing reduced-volume oral sulfate solution with standard 4-liter sulfate-free electrolyte lavage solution as preparation for colonoscopy. GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY, Volume 72, No. 2: 2010.
5. J. Regula; M.C.W. Spaander; S. Suchanek; A. Kornowski; V. Perrot; W. Fischbach; and the DUS Investigators. European, multicentre, observational, post-authorisation safety study of Oral Sulphate Solution: compliance and safety. Endoscopy International Open, 2019.
6. Hassan Cesare et al. Bowel preparation for colonoscopy: ESGE Guideline – Update 2019 ... Endoscopy

Рег.уд. № ЛП-004957 от 26.07.2018



# СОВРЕМЕННЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТРИСУЛЬФАТА ПРИ ПОДГОТОВКЕ К КОЛОНОСКОПИИ С ПОЗИЦИИ КЛИНИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Завьялов Д.В., Кашин С.В.

ГБУЗ Ярославской области «Клиническая онкологическая больница»  
(пр-т Октября, д.67, г.Ярославль, 150054, Россия)

*Качественное очищение кишечника является основой эффективного исследования толстой кишки. Неадекватная подготовка толстой кишки может быть причиной пропуска колоректальных полипов при проведении исследования и достигать 12%. Цель данной публикации заключается в представлении современных литературных данных, основанных на принципах доказательной медицины, рассматривающих вопросы безопасности использования трисульфата при подготовке к колоноскопии. Установлено, что препарат для очищения кишечника, представляющий собой малообъемное однолитровое гиперосмотическое средство на основе комбинации сульфатных солей натрия, калия и магния, имеет высокую эффективность подготовки кишечника к колоноскопии. Доля пациентов с успешной подготовкой кишечника при помощи трисульфата составляет 97%. При этом препарат имеет приемлемый профиль безопасности, в том числе, в отношении пациентов из групп риска. Результаты представленного обзора свидетельствуют о том, что новый малообъемный однолитровый трисульфат является эффективным средством для обеспечения одного из важнейших показателей качественной колоноскопии – очищения кишечника и имеет высокий профиль безопасности.*

**[Ключевые слова: колоноскопия, подготовка к колоноскопии, трисульфат]**

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: статья написана при поддержке компании ИПСЕН (Россия).**

**Материал публикуется в соответствии с рекламной политикой журнала.**

.....  
Для цитирования: Завьялов Д.В., Кашин С.В. Современный опыт применения трисульфата при подготовке к колоноскопии с позиции клинической безопасности. *Колопроктология*. 2021; т.20, №1, с. 93-99. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-93-99>  
.....

## CURRENT PRACTICE OF TRISULFATE APPLYING FOR BOWEL CLEANSING IN ACCORDING TO CLINICAL SAFETY POSITIONS

Dmitry V. Zavyalov, Sergey V. Kashin

State Budgetary Healthcare Institution of the Yaroslavl Region "Clinical Oncology Hospital" (prospekt Oktyabrya, 67, Yaroslavl, 150054, Russia)

*High-quality bowel cleansing is the basis for effective colon examination. Inadequate preparation of the colon can be the reason for non-detection of colorectal polyps during the examination and reach 12%. The objective of this publication is to present current literature data based on the principles of evidence-based medicine that address the safety of using trisulfate in preparation for colonoscopy. It was found that the drug for intestinal cleansing, which is a low-volume one-liter hyperosmotic based on a combination of sodium, potassium and magnesium sulfate salts, has a high efficiency of preparing the intestine for colonoscopy. The percentage of patients with successful bowel preparation using trisulfate is 97%. At the same time, the drug has an acceptable safety profile, including for patients from risk groups. The results of this review indicate that the new low-volume one-liter trisulfate is an effective remedy for providing one of the most important indicators of high-quality colonoscopy - bowel cleansing and has a high safety profile.*

**[Key words: colonoscopy, bowel cleansing, trisulfate]**

**CONFLICTS OF INTERESTS: the article was written with the support of IPSEN (Russia).**

**The material is published in accordance with the Journal's advertising policy.**

.....  
For citation: Zavyalov D.V., Kashin S.V. Current practice of trisulfate applying for bowel cleansing in according to clinical safety positions. *Koloproktologiya*. 2021; v.20, no.1, pp. 93-99. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-93-99>  
.....

Качественное очищение кишечника является основой эффективного исследования толстой кишки. Неадекватная подготовка толстой кишки может быть причиной пропуска колоректальных полипов при поведении исследования и достигать 12% [1]. В то же время подготовка к колоноскопии должна быть безопасной для пациента [2-4]. Для подготовки кишечника к эндоскопическим исследованиям наиболее высокий профиль безопасности в настоящее время имеют препараты на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) с электролитами, которые используются в РФ с 1997 года (Фортранс®). Вместе с тем отмечается общемировая тенденция к более активному применению малообъемных препаратов. При этом появление новых препаратов требует накопления клинического опыта как с позиции их применимости в клинической практике, так и их профиля безопасности, в том числе у пациентов, имеющих факторы риска возможных нежелательных явлений. Одним из новых малообъемных препаратов для подготовки к колоноскопии является трисульфат, который представляет собой однолитровое гиперосмотическое средство на основе комбинации сульфатных солей натрия, калия и магния. В нашей стране трисульфат доступен как безрецептурный препарат под торговым названием «ЗЗИКЛЕН».

Целью данного обзора является представление современных литературных данных, основанных на принципах доказательной медицины, рассматривающих вопросы безопасности использования трисульфата при подготовке к колоноскопии.

Растворы трисульфатов активно начали применять для подготовки к колоноскопии в США с 2009 года [5], а в странах ЕС – с 2013 года. С самого начала в клинической практике трисульфат продемонстрировал высокую эффективность. Одно из первых рандомизированных исследований было проведено Rex D.K. в 2010 году. В это исследование были включены 136 пациентов, половина из которых (n=68) использовала полнообъемный ПЭГ, а другая половина (n=68) – трисульфат [6]. По полученным данным, доля успешной подготовки («хорошая» и «отличная») в обеих группах была достаточно высокой и статистически не отличалась (98,4% – в основной группе и 89,6% – в контрольной). В то же время было отмечено, что доля «отличной» подготовки в основ-

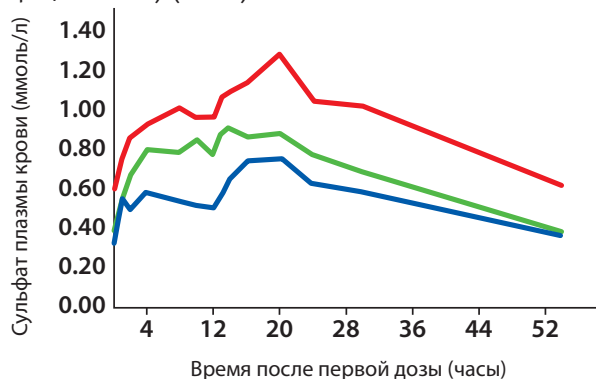
ной группе (при использовании трисульфата) была значительно выше и составила 71,0% против 34,3% – в контрольной (p<0,01).

В последующих исследованиях эти результаты были подтверждены. Так, в работе Harrison N. (2016) было установлено, что трисульфат, в сравнении с другими препаратами для подготовки к колоноскопии, имеет максимальную эффективность [7]. «Хорошая» и «отличная» подготовка кишечника была на уровне 98,4%. При этом было установлено, что показатель выявления колоректальных полипов превышал 50%. Показатели качества подготовки кишечника и выявления колоректальных полипов при использовании других слабительных препаратов были ниже. Также были получены данные, что использование трисульфата при подготовке к колоноскопии приводит к потенциальной финансовой экономии за счет лучшего качества очищения кишечника, уменьшения количества повторных исследований вследствие неадекватной подготовки и более длительных рекомендуемых интервалов наблюдения [8]. В двух российских исследованиях также была продемонстрирована высокая эффективность очищения кишечника [9,10]. «Хорошее» и «отличное» качество очищения было отмечено в 97% случаев. Средний уровень очищения кишечника по Бостонской шкале составил 8,2 балла из 9 возможных.

Наряду с данными о высокой эффективности сульфатов, была подтверждена безопасность их применения. В первых же исследованиях, проведенных в США Di Palma J.A. [5] в 2009 году и Rex D.K. [6] в 2010 году, которые представили свои данные о безопасности трисульфата при подготовке к колоноскопии, не было выявлено никаких серьезных нежелательных явлений и клинически значимых изменений биохимических или гематологических параметров. Не было выявлено изменений в уровне креатинина как в период подготовки к колоноскопии, так и в течение одного месяца после ее проведения. Не было установлено различий в профиле безопасности и эффективности при применении трисульфата у пациентов как пожилого, так и молодого возраста. На основе полученной доказательной базы было сделано заключение о том, что трисульфат безопасен для применения у пациентов, в том числе относящихся к группам риска (пациенты с печеночной

недостаточностью, легкой или умеренной почечной недостаточностью).

В другом исследовании была изучена фармакокинетика трисульфата для очистки кишечника у шести пациентов с умеренной почечной недостаточностью, у шести - с умеренной печеночной недостаточностью и у шести здоровых добровольцев [11]. Дозу препарата распределяли между приемами с интервалом 12 часов, т.е. использовалось применение в сплит режиме. При анализе результатов не было выявлено статистически значимых различий концентрации сульфатов в крови пациентов (максимальной концентрации и AUC) (Рис.1).



**Рисунок 1.** Адаптировано из [11]. Сульфат плазмы крови после приема первой дозы и второй дозы (через 12 часов) трисульфата. Красный цвет - пациенты с умеренной почечной недостаточностью. Зеленый цвет - с печеночной недостаточностью. Синий цвет - здоровые добровольцы (Pelham RW, 2010) [11].

**Figure 1.** Serum sulfate levels (Mean  $\pm$  SE) after dose 1 (0 hours) and dose 2 (12 hours) of oral sulfate solution. Red color - patients with moderate renal failure. Green color - with liver failure. Blue color - healthy volunteers (Pelham RW, 2010) [11].

При этом зарегистрированные неблагоприятные явления были легкой и умеренной степени тяжести выраженности и ограничивались головной болью и желудочно-кишечными симптомами. Ни у одного больного с почечной недостаточностью не было отмечено повышения уровня креатинина или клинического ухудшения состояния. На основе данных о фармакокинетике трисульфата, полученных в результате исследования, был сделан вывод об их безопасности у пациентов с умеренной почечной и печеночной недостаточностью.

Практически с самого начала применения трисульфата появились исследования, посвященные их сравнению с другой группой осмотических слабительных средств, – фосфатами. Уже в 2009 году Patel V. с соавт. сравнили кишечные и почечные эффекты применения трисульфата и фосфатов у здоровых добровольцев [12]. Было установлено, что в эквивалентных

дозах трисульфат продуцировал на 42% больший объем стула, чем фосфаты, а именно от объема стула зависит эффективность опорожнения кишечника. Благодаря этому физиологическому механизму трисульфат был более эффективен для очищения кишечника, чем фосфаты. При исследовании функции почек было установлено, что выведение сульфатов не сопровождалось увеличением объема кальция, выделяемого с мочой, и не приводило к его осаждению в почках. (Табл.1). При этом фосфаты, напротив, увеличивали склонность к осаждению солей кальция в моче.

В то же время использование трисульфата не сопровождалось повышением концентрации мочевой кислоты и оксалатов, а уровень креатинина при приеме первой дозы не менялся, а при приеме второй – повышался незначительно.

Нормальный уровень сульфатов сыворотки крови у взрослых натошак находился в диапазоне от 240 до 420 мкмоль/мл (от 2,3 до 4,6 мг/дл). Причем уровень сульфатов крови мог повышаться при некоторых физиологических процессах, например, после еды, особенно с высоким содержанием белка: до 57% – после еды с высоким содержанием белка против 11% – после еды с низким содержанием белка [12]. Уровень сульфатов в сыворотке крови также изменялся с возрастом или даже в течение дня с циркадными колебаниями до 25%. При подготовке к колоноскопии после приема трисульфата их содержание в сыворотке возрастало, однако лишь 20% принятой дозы выводилось с мочой [13,14]. Тем не менее, истинная доля экскретированной дозы была значительно меньше, поскольку эта оценка не учитывала экскрецию базального сульфата. Экскреция сульфатов в почках также не сопровождалась экскрецией кальция, а его уровень в моче оставался неизменным. По этим причинам использование трисульфата в качестве раствора для очистки кишечника не приводило к осаждению кальция в нефроне.

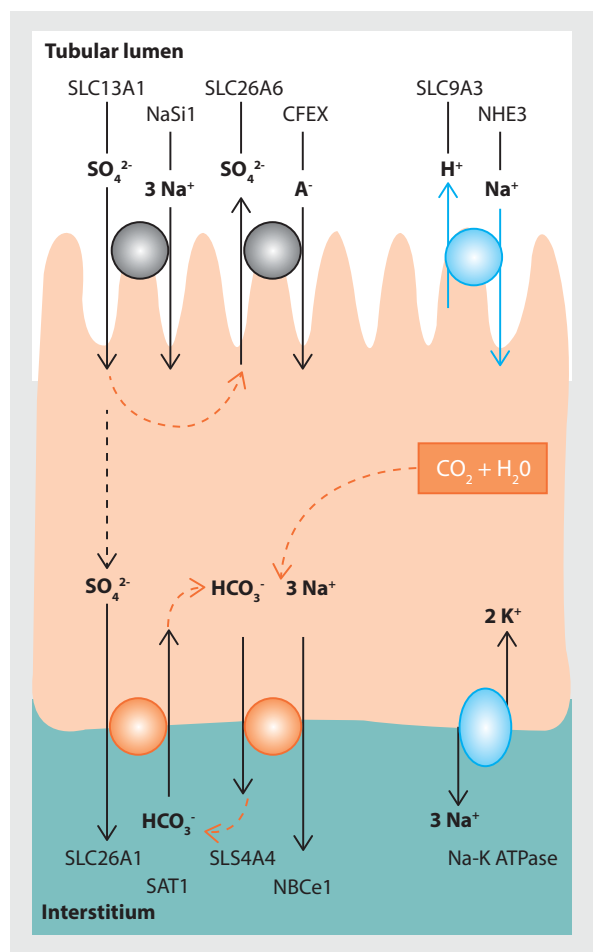
В 2016 году были опубликованы данные сравнительного исследования, в которое были включены сведения о 835219 пациентах, прошедших скрининговую колоноскопию в ряде клиник США с 2009 по 2011 гг. [15]. Для анализа было отобрано 299 417 пациентов. Из них 31885 пациентам проводили очищение кишечника раствором трисульфата. При анализе параметров безопасности было установлено, что общее количество нежелательных явлений при использовании трисульфата было достоверно ниже, чем при использовании препаратов других групп (2,3% против 2,9%, соответственно;  $p < 0,001$ ). При этом частота развития нежелательных явлений со стороны почек при использовании трисульфата была достоверно ниже, чем при использовании других препаратов для подготовки (0,21 против 0,32;  $p < 0,0001$ ).

**Таблица 1.** Адаптировано из [12]. Концентрация солей и креатинина в моче. PEG – ПЭГ. PO<sub>4</sub> – фосфаты. SO<sub>4</sub> – сульфатный раствор.

**Table 1.** The solute concentration and creatinine in the urine. PO<sub>4</sub> - phosphates. SO<sub>4</sub> - sulfate solution [12].

	Исходный уровень			Уровень после первой дозы			Уровень после второй дозы		
	ПЭГ	PO <sub>4</sub>	SO <sub>4</sub>	ПЭГ	PO <sub>4</sub>	SO <sub>4</sub>	ПЭГ	PO <sub>4</sub>	SO <sub>4</sub>
Na (mEq/l)	65±14	94±23	64±18	51±12	69±3	69±7	76±14	52±11	66±13
K (mEq/l)	43±13	38±9	38±6	13±3	24±3	26±7	26±5	29±5	34±6
Ca (mEq/l)	6,6±2	7,0±1,8	5,4±3,1	3,9±1	2,0±0,3	3,3±0,6	10±2	2,1±0,8	7,7±1,7
Оксалаты (мг/дл)	1,6±0,5	1,2±0,2	1,6±0,7	1,0±0,2	2,2±0,7	1,0±0,2	1,4±0,3	4,0±2,5	1,3±0,2
Креатинин (мг/дл)	110±31	81±21	96±43	73±13	84±6	75±14	123±24	103±20	107±19
Мочевая кислота (мг/дл)	36±7	31±6	27±15	20±2	22±2	19±3	24±2	19±2	17±6

В 2018 году Moulin B., et al опубликовали сравнительный



**Рисунок 1.** Адаптировано из [16]. Печеночный транспорт сульфата.

**Figure 1.** Renal transport of sulphate. Adapted from [16].

обзор использования трисульфата и фосфатов для подготовки к колоноскопии [16]. Было установлено, что использование трисульфата не связано ни с клиническими проявлениями повреждения почек, ни с лабораторными маркерами почечной недостаточности, такими как повышение уровня креатинина в сыворотке крови. По данным авторов, в насто-

ящее время не было зарегистрировано ни одного случая острой почечной недостаточности у пациентов, получающих трисульфат для очистки кишечника в доступных литературных источниках. Это объяснялось тем, что сульфаты плохо всасываются из кишечника человека, а при введении сульфатов в кровь быстро насыщается система реабсорбции и избыток сульфатов экскретируется почками. Они медленно проникают через клеточные мембраны и быстро выводятся через почки, поэтому не оказывают повреждающего действия (Рис.2).

Во время клинических исследований применения трисульфата не было зарегистрировано клинически значимого повышения креатинина сыворотки, в том числе у пациентов с почечной недостаточностью. Так же в клинических и постмаркетинговых исследованиях не было зарегистрировано клинически значимых электролитных нарушений. При этом не было выявлено никаких признаков повышенного риска таких нарушений по сравнению с другими препаратами для очистки кишечника. В качестве наглядной иллюстрации авторы привели пример из акушерской практики: внутривенное или внутримышечное введение относительно большого количества сульфата (20 г) в форме сульфата магния практикуется при лечении преэклампсии у беременных и хорошо переносится без признаков почечной токсичности [17]. В заключение был сделан вывод о том, что трисульфат имеет приемлемый профиль безопасности, в том числе в отношении пациентов с почечной недостаточностью. Использование трисульфата в качестве малообъемного препарата для очистки кишечника имело преимущество перед препаратами на основе ПЭГ с точки зрения удобства и комфорта пациента.

Следует отметить, что с 2015 года трисульфат включен в клинические рекомендации американской ассоциацией гастроинтестинальной эндоскопии как препарат, рекомендованный для подготовки к колоноскопии [18]. В Рекомендациях указано, что прием трисульфата не связан с нарушением водного и электролитного баланса, так как сульфат является плохо поглощаемым анионом. При этом нет данных о серьезных нежелательных явлениях при использовании трисульфата. Важным элементом клинических

рекомендаций является указание на то, что применение трисульфата одобрено управлением по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA). Важно отметить, что FDA не только принимает решение о допуске к применению нового лекарственного средства, анализируя результаты исследований, подтверждающих безопасность и эффективность препарата, но и после разрешения применения лекарственного средства ежегодно собирает отчеты о его действии для анализа нежелательных явлений и реакций [19].

В рекомендациях Европейского общества гастроинтестинальной эндоскопии (ESGE) 2019 года указано, что трисульфат имеет высокую эффективность, безопасность и переносимость [20]. Есть уточнение, что трисульфат противопоказан пациентам с сердечной недостаточностью, асцитом и тяжелой почечной недостаточностью (при скорости клубочковой фильтрации <30 мл/мин.). При этом указывается, что до настоящего времени не было выявлено клинически значимых нарушений электролитов и повреждения почек или значительного повышения креатинина у пациентов с почечной и печеночной недостаточностью.

Сравнение эффективности и безопасности трисульфата с эталонным полиэтиленгликолем было также проведено в российском многоцентровом исследовании [9]. В исследование были включены 296 пациентов (147 пациентов проводили подготовку трисульфатом, 149 – ПЭГ). По результатам исследования были представлены данные о высоких показателях эффективности Эзиклена при подготовке к колоноскопии (Табл.2).

Доля пациентов с успешной подготовкой кишечника (более 6 баллов по Бостонской шкале) при помощи трисульфата составила 97%.

Как и при приеме большинства средств для очищения кишечника, при применении «Эзиклена» регистрировались связанные с принимаемыми препаратами симптомы: тошнота, рвота, вздутие живота, дискомфорт в области живота и др., однако эти проявления были легкой степени тяжести. Средняя оценка тяжести нежелательных явлений была низкой: <1 балла по шкале от 0 до 11, поэтому с клинической точки зрения они не были расценены как значимые. В предыдущих исследованиях был сделан вывод о том, что развитие тошноты связано с быстрым (менее чем за 30 минут) употреблением раствора «Эзиклена», поэтому производитель рекомендует раствор осмотического средства принимать длительно, в течение 30-60 минут.

При проведении исследования был осуществлен контроль основных биохимических и электролитных показателей крови. Было отмечено повышение уровня мочевины у 10% пациентов, уже

**Таблица 1.** Адаптировано из [9]. Успешная общая подготовка кишечника. СРП - Сульфатный раствор.

**Table 1.** Successful Bowel Preparation OSS - oral sulphate solution. Adapted from [9]

	СРП OSS (N = 139)	Макрогол Macrogol (N = 135)
<b>Успешная общая подготовка</b> <b>Successful preparation</b>		
Да, n (%) Yes, n (%)	135 (97,1)	132 (97,8)
Нет, n (%) No, n (%)	4 (2,9)	3 (2,2)
Скорректированная доля (95% ДИ) [a] Adjusted proportion (95% CI) [a]	97,2 (89,5;99,3)	97,7 (90,7;99,4)
Скорректированное различие между группами (95% ДИ) [a] Adjusted difference between groups (95% CI) [a]		-0,5 (-4,2;3,3)

имевших гиперурикемию до начала исследования, но приступов подагры зарегистрировано не было. Во время исследования в каждой группе отмечалось развитие или ухудшение имевшейся до начала исследования гипербилирубинемии примерно у 6% пациентов, а приблизительно у 4% пациентов в обеих группах регистрировалось повышение уровней трансаминаз. Однако было установлено, что у пациентов до начала участия в исследовании уже имелись состояния, которые могли привести к повышению уровня билирубина или отклонению от нормы уровней трансаминаз: желчно-каменная болезнь, синдром Жильбера и лекарственно-индуцированное поражение печени. При этом большая часть изменений уровней билирубина и мочевины были временными и не приводили к развитию каких-либо клинических проявлений. В исследование были включены 43 пациента с ВЗК (15% от общей группы) в фазе ремиссии, из которых 22 проводили подготовку трисульфатом. Профиль переносимости и безопасности трисульфата у пациентов с наличием ВЗК не отличался от такового в общей популяции пациентов.

В инструкции к медицинскому применению трисульфата указывается возможность применения препарата у отдельных групп пациентов [18]. Так, для пожилых пациентов не было установлено отличий в эффективности и безопасности препарата по сравнению с пациентами других возрастов. Для пожилых пациентов коррекция дозы не требуется. Не требуется коррекция дозы и для пациентов с нарушением функции печени и почек легкой или средней степени тяжести, однако, у таких больных следует соблюдать осторожность. Противопоказанием к применению трисульфата явля-



ется лишь случаи тяжелой почечной недостаточности. Как и любые другие препараты, используемые для очищения кишечника, трисульфат следует с осторожностью применять у пациентов, получающих терапию лекарственными средствами, влияющими на концентрацию электролитов: блокаторы кальциевых каналов, диуретики и т.д., а также препаратами, удлиняющими интервал QT.

Результаты представленного обзора свидетельствуют о том, что новый малообъемный однолитровый препарат трисульфат (в РФ доступен как «Эзиклен») является эффективным средством для обеспечения одного из важнейших показателей качественной колоноскопии – очищения кишечника и имеет высокий профиль безопасности. Трисульфат активно применяется в клинической практике с 2009 года и стабильно демонстрирует свою эффективность. Безопасность трисульфата экспериментально и клинически доказана и находится на высоком уровне, в том числе при применении у пациентов из групп риска (пациенты с почечной и печеночной недостаточностью, ВЗК, пожилые пациенты). Первые сведения об отечественном опыте применения трисульфата полностью подтверждает международные данные как в отношении эффективности очищения кишечника, так и в отношении его безопасности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Завьялов Д.В., Кашин С.В. Пропущенные неоплазии толстой кишки. *Колопроктология*. 2015; №1(51), с.32-37.
2. Князев М.В., Щербаков П.Л., Парфенов А.И. и соавт. Очищение толстой кишки перед колоноскопией: баланс эффективности, безопасности и восприимчивости препаратов. *Эндоскопическая хирургия*. 2015; №3, с. 30-36.
3. Мтвралашвили Д.А., Веселов В.В., Галяев А.В. и соавт. Опыт применения препаратов полиэтиленгликоля для подготовки к эндоскопическим исследованиям и вмешательствам. *Лечебное дело*. 2016; № 3, с. 85-90.
4. Костенко Н.В., Веселов В.В. Отечественный препарат полиэтиленгликоля в диагностике заболеваний толстой кишки. *Фарматека*. 2010; №20(213), с.72-75.
5. Di Palma JA. A Randomized Clinical Study Evaluating the Safety and Efficacy of a New, Reduced-Volume, Oral Sulfate Colon-Cleansing Preparation for Colonoscopy. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104: 2275-84.
6. Rex DK. A randomized clinical study comparing reduced-volume oral sulfate solution with standard 4-liter sulfate-free electrolyte lavage solution as preparation for colonoscopy gastrointestinal endoscopy. *Gastrointest Endosc*. 2010 Aug 19;72(2):328-36. Epub 2010 Jun 19.
7. Harrison NM. Bowel cleansing before colonoscopy. *World J Gastrointest Endosc*. 2016 January 10; 8(1):4-12.
8. Lynn Huynh MPH, Yermakov S, Davis M. et al. Cost-analysis model of colonoscopy preparation using split-dose reduced-volume oral sulfate solution (OSS) and polyethylene glycol with electrolytes solution (PEG-ELS). *Journal of Medical Economics*. 2016; v.19, Issue 4.
9. Федоров Е.Д., Веселов В.В., Кашин С.В., Тихомирова Е.В., и соавт. Оценка подготовки кишечника малообъемным препаратом

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: З.Д., К.С.  
Сбор и обработка материалов: З.Д.  
Статистическая обработка: З.Д.  
Написание текста: З.Д.  
Редактирование: К.С.

## THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Z.D., K.S.  
Collection and processing of the material: Z.D.  
Statistical processing: Z.D.  
Writing of the text: Z.D.  
Editing: K.S.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Завьялов Дмитрий Вячеславович.  
<https://orcid.org/0000-0002-9173-6878>  
Кашин Сергей Владимирович.  
<https://orcid.org/0000-0001-6098-7677>

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Zavyalov D.V.  
<https://orcid.org/0000-0002-9173-6878>  
Kashin S.V.  
<https://orcid.org/0000-0001-6098-7677>

- на основе сульфатов в сравнении с макроголом: многоцентровое рандомизированное сравнительное клиническое исследование 3-й фазы. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2019; №29(2), с.60-75.
10. Хитарьян А.Г., Ковалёв С.А., Ромодан Н.А. и соавт. Первые результаты применения одноэтапной подготовки гиперосмотическим солевым раствором на основе сульфатов, как подготовительного этапа для выполнения эндоскопических исследований и (или) оперативного лечения на ободочной кишке. *Колопроктология*. 2019; т.18, №S3 (69), с.103.
  11. Pelham RW. A Pharmacokinetics Evaluation of a New, Low-Volume, Oral Sulfate Colon Cleansing Preparation in Patients With Renal or Hepatic Impairment and Healthy Volunteers. *J Clin Pharmacol*. 2010;50:350-354.
  12. Patel V. Intestinal and Renal Effects of Low-Volume Phosphate and Sulfate Cathartic Solutions Designed for Cleansing the Colon: Pathophysiological Studies in Five Normal Subjects. *The American Journal of Gastroenterology*. 2009; v. 104, Issue 4, p.953-965. DOI:10.1038/ajg.2008.124
  13. Cole DE, Thurgood AM, Whiting SJ. Increased serum sulfate after protein loading in adult humans. *Can J Physiol Pharmacol*. 1991; 69: 25-27.
  14. Cole DE, Evrovski J. The clinical chemistry of inorganic sulfate. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2000; 37: 299-344
  15. Anastassopoulos K, Farraye FA, Knight T. et al. A Comparative Study of Treatment-Emergent Adverse Events Following Use of Common Bowel Preparations Among a Colonoscopy Screening Population: Results from a Post-Marketing Observational Study. *Dig Dis Sci*. 2016;61(10):2993-3006.
  16. Moulin B, Ponchon T. A comparative review of use of sulphate

and phosphate salts for colonoscopy preparations and their potential for nephrotoxicity. *Endosc Int Open*. 2018;6(10):E1206-E1213. doi:10.1055/a-0581-8723

17. Smith JM, Lowe RF, Fullerton J et al. An integrative review of the side effects related to the use of magnesium sulfate for pre-eclampsia and eclampsia management. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013; 13:34

18. Saltzman JR, Cash BD, et al. ASGE Standards of Practice Committee. Bowel preparation before colonoscopy. *Gastrointest*

*Endosc*. 2015; 81:781.

19. DA - Food and Drug Administration. Электронный ресурс: <https://gmpnews.ru/terminologiya/fda/> (дата обращения 29.05.2020)

20. Hassan C, East J, Radaelli F, et al. Bowel preparation for colonoscopy: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline - Update 2019. *Endoscopy*. 2019;51(8):775-794. doi:10.1055/a-0959-0505

21. Инструкция по медицинскому применению препарата «Эзиклен».

## REFERENCES

1. Zav`yalov D.V., Kashin S.V. Propushhenny`e neoplazii tolstoj kishki. *Koloproktologia*. 2015, no.1(51), pp.32-37. (in Russ.).

2. Knyazev M.V., Scherbakov P.L., Parfenov A.I. Colon cleansing before colonoscopy: balance of effectiveness, safety and accessibility of the medications. *Endoscopic surgery*. 2015; no.3, pp. 30-36. (in Russ.).

3. Mtvralashvili D.A., Veselov V.V., Galyaev A.V. et al. Polyethylene Glycol: Preparation of Patients for Endoscopic Procedures. *Lechebnoe delo*. 2016; no.3, pp.85-90. (in Russ.).

4. Kostenko N.V., Veselov V.V. Domestic polyetheltneglycol drug in the diagnosis of colonopathies. *Farmateca*. 2010; n.20(213), pp.72-75. (in Russ.).

5. Di Palma JA. A Randomized Clinical Study Evaluating the Safety and Efficacy of a New, Reduced-Volume, Oral Sulfate Colon-Cleansing Preparation for Colonoscopy. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104: 2275-84.

6. Rex DK. A randomized clinical study comparing reduced-volume oral sulfate solution with standard 4-liter sulfate-free electrolyte lavage solution as preparation for colonoscopy gastrointestinal endoscopy. *Gastrointest Endosc*. 2010 Aug 19;72(2):328-36. Epub 2010 Jun 19.

7. Harrison NM. Bowel cleansing before colonoscopy. *World J Gastrointest Endosc*. 2016 January 10; 8(1):4-12.

8. Lynn Huynh MPH, Yermakov S, Davis M. et al. Cost-analysis model of colonoscopy preparation using split-dose reduced-volume oral sulfate solution (OSS) and polyethylene glycol with electrolytes solution (PEG-ELS). *Journal of Medical Economics*. 2016; v.19, Issue 4.

9. Fedorov E.D., Veselov V.V., Kashin S.V., Tikhomirova E.V., et al. Assessment of Bowel Preparation Using Low-Volume Sulphate-Based Preparations in Comparison with Macrogols: A Multicenter, Randomized, Comparative Clinical Study of the 3rd Phase. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2019; no.29(2), pp.60-75. (In Russ.)

10. Khitryan A.G., Kovalev S.A., Romodan N.A. et al. The first results of one day preparation with sulfate-based hyperosmotic solution as a preparatory stage for performing endoscopic examinations and (or) surgical treatment on the colon. *Koloproktologia*. 2019; v.18, no. 53 (69), p.103. (in Russ.).

11. Pelham RW. A Pharmacokinetics Evaluation of a New, Low-Volume, Oral Sulfate Colon Cleansing Preparation in Patients With Renal or Hepatic Impairment and Healthy Volunteers. *J Clin Pharmacol*. 2010;50:350-354.

12. Patel V. Intestinal and Renal Effects of Low-Volume Phosphate and Sulfate Cathartic Solutions Designed for Cleansing the Colon: Pathophysiological Studies in Five Normal Subjects. *The American Journal of Gastroenterology*. 2009; v. 104, Issue 4, p.953-965. DOI:10.1038/ajg.2008.124

13. Cole DE, Thurgood AM, Whiting SJ. Increased serum sulfate after proteinloading in adult humans. *Can J Physiol Pharmacol*. 1991; 69: 25-27.

14. Cole DE, Evrovski J. The clinical chemistry of inorganic sulfate. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2000; 37: 299-344

15. Anastassopoulos K, Farraye FA, Knight T. et al. A Comparative Study of Treatment-Emergent Adverse Events Following Use of Common Bowel Preparations Among a Colonoscopy Screening Population: Results from a Post-Marketing Observational Study. *Dig Dis Sci*. 2016;61(10):2993-3006.

16. Moulin B, Ponchon T. A comparative review of use of sulphate and phosphate salts for colonoscopy preparations and their potential for nephrotoxicity. *Endosc Int Open*. 2018;6(10):E1206-E1213. doi:10.1055/a-0581-8723

17. Smith JM, Lowe RF, Fullerton J et al. An integrative review of the side effects related to the use of magnesium sulfate for pre-eclampsia and eclampsia management. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013; 13:34

18. Saltzman JR, Cash BD, et al. ASGE Standards of Practice Committee. Bowel preparation before colonoscopy. *Gastrointest Endosc*. 2015; 81:781.

19. FDA - Food and Drug Administration. <https://gmpnews.ru/terminologiya/fda/> (date: 29.05.2020)

20. Hassan C, East J, Radaelli F, et al. Bowel preparation for colonoscopy: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline - Update 2019. *Endoscopy*. 2019;51(8):775-794. doi:10.1055/a-0959-0505

21. Summary of product characteristics Eziclen (in Russ.).

# ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЕ И ТРАНСАНАЛЬНОЕ ВАКУУМНОЕ ДРЕНИРОВАНИЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО АНАСТОМОЗА (клинический случай)

Уваров И.Б.<sup>1,2</sup>, Мануйлов А.М.<sup>1</sup>, Сичинава Д.Д.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»  
Минздрава России (г.Краснодар, ул. Митрофана Седина, д.4, 350063,  
Россия)

<sup>2</sup>ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства  
здравоохранения Краснодарского края (г.Краснодар, ул. Димитрова, д.146,  
350040, Россия)

*ЦЕЛЬ:* описать клинический случай лечения несостоятельности колоректального анастомоза, осложненного вторичным распространенным послеоперационным перитонитом с сохранением целостности анастомоза.

*ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ:* пациент Б., 69 лет, поступил с диагнозом: злокачественное новообразование прямой кишки Т3N0M0. Операция в объёме лапароскопической низкой передней резекции прямой кишки (ПК) с тотальной мезоректумэктомией, илеостомия. В послеоперационном периоде развилась картина несостоятельности анастомоза.

*РЕЗУЛЬТАТЫ:* применен способ хирургического лечения, включающий этапные релапаротомии без разобщения анастомоза, с установкой интраабдоминальной и тазовой системы терапии отрицательным давлением (ТОД) и трансанального эндолюминального вакуумного дренажа (ТАЭЛВД) к области анастомоза.

*ЗАКЛЮЧЕНИЕ:* первый опыт применения метода дал обнадеживающие результаты, что позволяет считать предложенное тактическое и техническое решение перспективным вариантом лечения данной сложной группы пациентов.

[*Ключевые слова:* перитонит, терапия отрицательным давлением, несостоятельность колоректального анастомоза]

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Уваров И.Б., Мануйлов А.М., Сичинава Д.Д. Интраабдоминальное и трансанальное вакуумное дренирование при лечении несостоятельности колоректального анастомоза (клинический случай). *Колoproктология*. 2021; т.20, №1, с.100-106. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-100-106>

## INTRAABDOMINAL AND TRANSANAL VACUUM DRAINAGE FOR COLORECTAL ANASTOMOSIS LEAKAGE (case report)

Ivan B.Uvarov<sup>1,2</sup>, Alexandr M.Manuylov<sup>1</sup>, David D.Sichinava<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kuban State Medical University of Ministry of Health of Russia (Mitrofana  
Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia)

<sup>2</sup>Regional Oncological Center of Krasnodar, of Ministry of Health of Krasnodar  
region (Dimitrova str. 146, Krasnodar, 350040, Russia)

*AIM:* to present a clinical case of treatment of colorectal anastomosis leakage complicated by secondary diffuse postoperative peritonitis with preservation of the anastomosis.

*PATIENTS AND METHODS:* the patient was a 69-year-old male, with a diagnosis of the rectal cancer pT3N0M0, after surgery treatment (laparoscopic TME, ileostomy). The postoperative period was complicated by anastomosis leakage.

*RESULTS:* we applied the method of surgical treatment, which included stage relaparotomy without resection of anastomosis with

installing intraabdominal and pelvic system of negative pressure treatment and transanal endoluminal vacuum drainage at the anastomotic leakage site.

**CONCLUSION:** the primary use of the method gave us encouraging results, which enables to consider the proposed technical approach as a promising option for treatment of such a complicated group of patients.

[Key words: peritonitis, negative pressure therapy, colorectal anastomosis leakage]

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Uvarov I.B., Manuylov A.M., Sichinava D.D. Intraabdominal and transanal vacuum drainage for colorectal anastomosis leakage (case report). *Koloproktologia*. 2021; v.20, no.1, pp. 100-106. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-100-106>

Адрес для переписки: : Уваров Иван Борисович, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, ул. Димитрова, д.146, Краснодар, 350040, Россия, тел./факс: +7(861) 233-68-18, тел. +7(918)482-50-60; e-mail: [kkod@kkod.ru](mailto:kkod@kkod.ru), [uvarovivan@yandex.ru](mailto:uvarovivan@yandex.ru)

Address for correspondence: Uvarov Ivan, Regional Oncological Center of Krasnodar, Dimitrov Str. 146, Krasnodar, 350040, Russia, +7(861)233-68-18, e-mail: [kkod@kkod.ru](mailto:kkod@kkod.ru), [uvarovivan@yandex.ru](mailto:uvarovivan@yandex.ru)

Дата поступления – 28.08.2020  
Received – 28.08.2020

После доработки – 08.09.2020  
Revised – 08.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020  
Accepted for publication – 09.12.2020

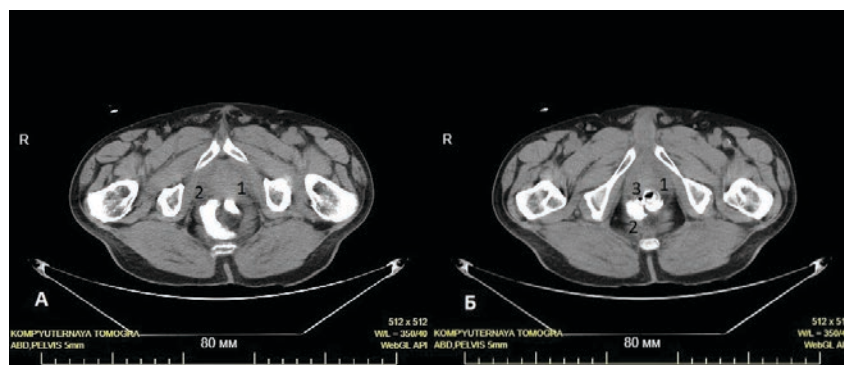
## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на многократно возросшую степень безопасности хирургии колоректального рака (КРР), частота гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде остается достаточно высокой (6-25%), а частота несостоятельности колоректальных анастомозов колеблется от 6 до 20% [1,2]. Развитие этих осложнений утяжеляет течение послеоперационного периода, удорожает лечение, ухудшает отдаленные результаты и является основной причиной летальных исходов в хирургии КРР, особенно при развитии распространенного перитонита, летальность при котором достигает 54,7-92% [3,4]. В настоящее время предложено множество методов консервативного и малоинвазивного лечения несо-

стоятельности анастомоза (НА), обеспечивающих сохранение соустья, однако основным условием их применения является отсутствие проявлений абдоминального сепсиса. При распространенном перитоните на первый план выдвигается купирование септического процесса и соблюдение принципа устранения источника перитонита путем резекции/разобщения анастомоза [2,6]. Нам представляется актуальным описать клинический случай лечения НА, осложненной вторичным распространенным послеоперационным перитонитом с сохранением целостности анастомоза.

### Описание клинического случая

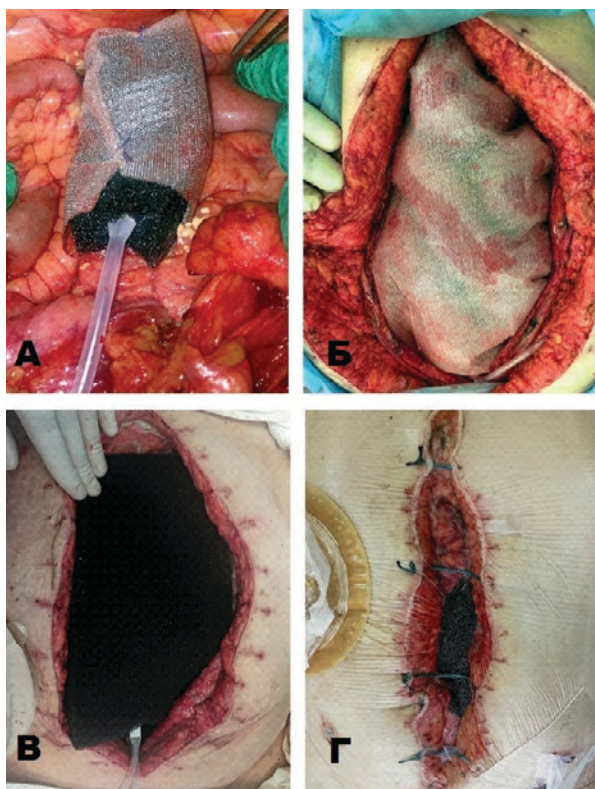
Пациент Б., 69 лет, поступил с диагнозом: злокачественное новообразование прямой кишки Т3N0M0.



**Рисунок 1.** Компьютерная томография малого таза пациента Б.: А – визуализация затека контрастного вещества по ходу низведенной кишки; Б – визуализация зоны несостоятельности анастомоза. 1 – контрастированная низведенная ободочная кишка; 2 – затек контраста в пресакральном пространстве, 3 – зона несостоятельности

**Figure 1.** CT scans of the pelvis of patient B.: A – visualization of contrast leakage along colon. Б - anastomotic leakage site. 1 - contrasted colon; 2 - contrasted leakage in the presacral space; 3 - anastomotic leakage site

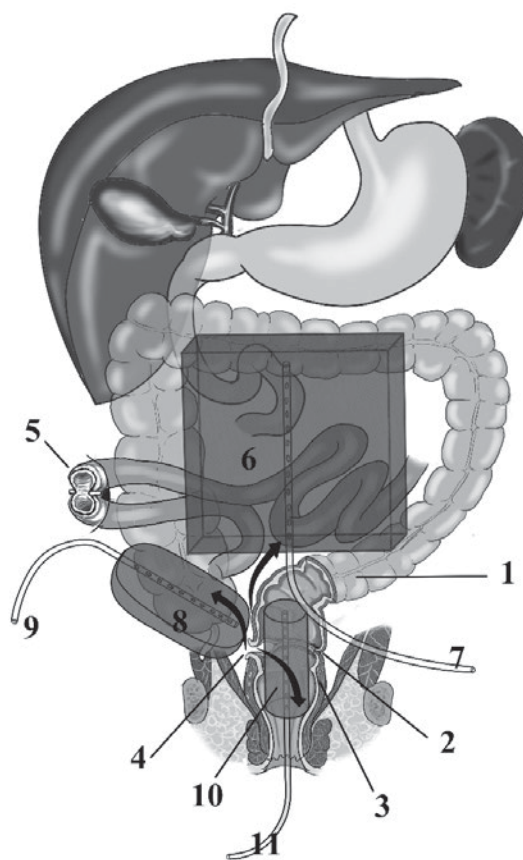




**Рисунок 2.** Этапы установки системы ТОД в малый таз и БП: А – установлена вакуумная дренажная система в полость малого таза; Б – уложена дренажная сетка на петли кишечника; В – установлена пенная губка с проведенным внутри дренажом; Г – рана частично ушита и закрыта пленкой Suprasorb F.

**Figure 2.** Stages of installing the Negative Pressure Therapy System in the l pelvis and in the abdominal cavity; А – placed vacuum drainage system in the pelvis; Б - placed drainage mesh on the small bowel; В - placed the foam sponge with drainage inside; Г - partially sutured wound covered with Suprasorb F film

Проведена стандартная механическая подготовка кишечника. Операция в объёме лапароскопической низкой передней резекции прямой кишки (лап.НПР) с тотальной мезоректумэктомией, илеостомия, коло-ректальный анастомоз сформирован циркулярным шивающим аппаратом. На 6 сутки после операции состояние пациента ухудшилось. Выполнена компьютерная томография (КТ) органов брюшной полости (БП) и малого таза (МТ), выявлены признаки НА (Рис.1), дилатация петель тонкой кишки, наличие жидкости и газа в брюшной полости, инфильтрация клетчатки МТ. При пальцевом исследовании выявлен дефект анастомоза 0,2 см по задней стенке. Установлен диагноз НА класс С (по [7]), распространенный перитонит. Мангеймский индекс перитонита (МИП) – 25 баллов, внутрибрюшная гипертензия (ВБГ) 0 степени. Выполнена релапаротомия (РЛ). В БП около 200 мл гнойного отделяемого во всех

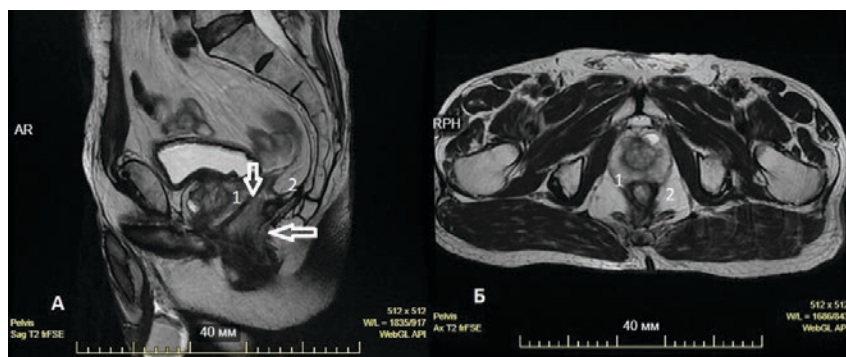


**Рисунок 3.** Схема установки системы ТОД и ТАЭЛВД у пациента Б. Обозначения: 1 – низведенная ободочная кишка; 2 – анастомоз; 3 – культя прямой кишки; 4 – дефект КРА; 5 – илеостома; 6 – губчатая интраабдоминальная повязка системы ТОД; 7 – дренаж интраабдоминальной системы ТОД; 8 – тазовая губчатая повязка; 9 – дренаж тазовой системы ТОД; 10 – губка ТАЭЛВД; 11 – дренажная трубка ТАЭЛВД.

**Figure 3.** Installation of the Negative Pressure Therapy System and the Transanal Endoluminal Vacuum drainage. 1 - colon; 2 - colorectal anastomosis; 3 - rectal stump; 4 - anastomotic leakage site; 5 - ileostoma; 6 - intraabdominal foam sponge of the negative pressure therapy system; 7 - drainage of the intraabdominal negative pressure therapy system; 8 - pelvic foam sponge; 9 - drainage of the pelvic negative pressure therapy system; 10 - foam sponge of the transanal endoluminal vacuum drainage; 11 - drainage tube of the transanal endoluminal vacuum drainage

отделах, в полости малого таза инфильтрат, включающий низведенную ободочную кишку, анастомоз и петли тонкой кишки. Дефект анастомоза в инфильтрате не визуализируется. В полости МТ, в зоне анастомоза и петель тонкой кишки налет фибрина, петли тонкой кишки расширены до 4 см, заполнены жидким содержимым. Индекс брюшной полости (ИБП) по Савельеву – 17 баллов. Решено выполнить санацию БП, без разобщения анастомоза, с установ-





**Рисунок 4.** Магнитно-резонансная томография малого таза пациента Б. через 6 мес. после завершения лечения – полная регенерация зоны дефекта КРР без остаточной параректальной полости: А – сагиттальная проекция; Б – горизонтальная проекция. 1 зона – анастомоза; 2 – грануляционная ткань в зоне бывшего дефекта

**Figure 4.** MRI of the pelvis of patient B. 6 month after the finally procedure - complete regeneration of the anastomotic leakage site without residual pararectal cavity: A - sagittal view; B - horizontal view. 1 - colorectal anastomosis site; 2- granulation tissue in the area of the previous defect.

кой интраабдоминальной и тазовой системы терапии отрицательным давлением (ТОД) и трансанального эндюлюминального вакуумного дренажа (ТАЭЛВД) к области анастомоза. Использовали устройство для лечения ран управляемым разрежением (отрицательным давлением) Suprasorb® CNP P1 (LOHMANN & RAUSCHER, Германия), представляющий собой аппарат вакуумной аспирации содержимого с регулируемым режимом отрицательного давления и возможностью установки постоянного или переменного режима разрежения.

После санации в полость МТ отдельно помещена пенистая губка, сформированная с учетом геометрии МТ, поверхность которой обернута трехмерной сетчатой дренажной пленкой, с проведенным через неё дренажом (Рис.2А). ВБП на поверхность петель кишечника уложена трехмерная дренажная пленка (Рис.2Б), поверх пленки установлена смоделированная по форме и объёму пенистая губчатая повязка, через которую на всю длину проведен сквозной дренаж (Рис.2В).

На края раны наложены редкие кожные швы с расстоянием между краями раны 5–8 см, рана закрыта полупроницаемой пленкой Suprasorb®, дренажи соединены с аппаратом, установлен постоянный режим отрицательного давления – 100 мм рт.ст. (Рис.2Г). Трансанально в полость прямой кишки проведена пенистая губка, смоделированная в виде цилиндра по диаметру анастомоза и протяженностью около 7 см (зона анастомоза расположена по центру) с дренажом внутри, промежность герметизирована инцизионной пленкой (схема операции на Рис.3).

Дренаж соединен с аппаратом RENASYS GO®, с режимом отрицательного давления – 50 мм рт.ст. Через 48 часов выполнена плановая санационная РЛ. Брюшная полость с положительной динамикой, единичный налет фибрина, МТ ограничен от

брюшной полости, без патологического отделяемого. Выполнена повторная установка системы ТОД в БП и ТАЭЛВД. Через 48 ч. выполнена вторая плановая санационная РЛ. Явления перитонита купированы. Брюшная полость послойно ушита наглухо, в зону анастомоза установлен ТАЭЛВД. Через 72 ч. выполнена смена ТАЭЛВД. Еще через 72 часа система удалена. Пациент выписан через 10 дней после удаления ТАЭЛВД. Через 6 мес. при контрольном обследовании – полное закрытие дефекта, без остаточной параректальной полости (Рис.4). Илеостома закрыта.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Несостоятельность колоректального анастомоза остается актуальной проблемой, поскольку, несмотря на стандартизацию хирургической техники, на практике невозможно нивелировать все факторы риска данного осложнения [8]. Помимо факторов общего (системного) характера, одним из основных является уровень формирования соустья: частота НА в 3,5 раза выше при резекции по поводу опухолей, расположенных ниже 7 см от анального канала [8,9]. В описанном случае как раз имело место осложнение после низкой передней резекции с тотальной мезоректумэктомией. Данные одного из новейших Кохрейновских систематических обзоров свидетельствуют, что ни механическая подготовка кишечника, ни формирование стомы, ни ее тип на сегодняшний день не позволяют значительно сократить частоту НА и смертность от данного осложнения [10]. Традиционно методом выбора хирургического лечения при НА является релапаротомия, резекция/разобщение анастомоза с экстериоризацией проксимального участка кишки в качестве концевой стомы. Это устраняет источник сепсиса, но более чем в 50%

случаев обрекает пациентов на пожизненную стому [11–13]. Только при отсутствии распространенного перитонита и явлений сепсиса возможно ограничиться дренированием и формированием отключающей стомы (тактика «отведения и дренирования», или “divert and drain”) [14–16]. В настоящее время предложены различные варианты консервативного и малоинвазивного лечения НКРА: стентирование, клипирование дефекта, использование фибринового клея, трансанальное дренирование [12,14–16]. Наибольшую популярность получил метод эндоскопической внутрипросветной вакуумной терапии с применением системы Endo-SPONGE® (B-Braun Medical), достоинством которого являются предотвращение формирования незаживающей полости и минимальное повреждение запирающего аппарата, что, в свою очередь, благоприятно сказывается на качестве жизни пациента. [17–19]. Данный метод достаточно сложен в исполнении и требует участия хирурга и эндоскописта, кроме того, данная система не зарегистрирована для использования на территории РФ. Метод сопровождается заживлением анастомоза у 56–90% больных. В то же время у 16% больных возникают серьезные осложнения: некроз кишки, рецидивные свищи, кровотечение, выраженный болевой синдром [14,19]. Следует подчеркнуть, что выбор в пользу консервативного либо малоинвазивного лечения возможен только при условии отсутствия выраженных системных клинических проявлений (перитонита, сепсиса).

Показаниями для этапного лечения с использованием вакуум-ассистированной терапии в описанном случае явились распространенный фибринозно-гнойный перитонит, отсутствие возможности одномоментной ликвидации источника перитонита (выбор тактики сохранения анастомоза), что согласуется с рекомендациями Российского общества хирургов [20,21]. Описанная нами методика в своем принципе комбинирует тактические схемы “divert and drain”, этапное лечение перитонита с использованием терапии отрицательным давлением и внутрипросветное дренирование анастомоза вакуумным дренажем. При этом примененная методика ТАЭЛВД проста для выполнения, не требует применения эндоскопической аппаратуры и привлечения дополнительных специалистов. Применение подобной комбинированной методики позволило в представленном клиническом случае исключить необходимость разобщения анастомоза у пациента

с несостоятельностью класса С.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первый опыт применения комбинированной терапии отрицательным давлением с интраабдоминальным и трансанальным эндодюминальным дренированием в лечении пациента с несостоятельностью анастомоза, осложненной вторичным распространенным перитонитом, дал обнадеживающие результаты. Это позволяет считать предложенное тактическое и техническое решение перспективным вариантом лечения данной сложной группы пациентов.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Уваров Иван Борисович – доктор мед.наук, доцент, заведующий онкологическим отделением № 3 ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, ID orcid.org/0000-0002-2725-3281, Researcher ID: A-4192-2014, тел.: +7(918)4825060; e-mail: uvarovivan@yandex.ru.

Мануйлов Александр Михайлович – доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии №2 ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, ID orcid.org/0000-0002-5928-6520, тел.: +7(861)252-14-60; e-mail: amm555@mail.ru.

Сичинава Давид Джамбулович – аспирант кафедры хирургии №2 ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, ID orcid.org/0000-0001-8630-036X, тел.: +7(918)4910385; e-mail: corpus@ksma.ru.

### УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: Мануйлов А.М., Уваров И.Б.

Сбор и обработка материалов: Сичинава Д.Д.

Написание текста: Сичинава Д.Д., Уваров И.Б.

Редактирование: Мануйлов А.М.

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Manuylov A.M., Uvarov I.B.

Collection and processing of the material: Sichinava D.D.

Writing of the text: Sichinava D.D., Uvarov I.B.

Editing: Manuylov A.M.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В. Аппаратный межкисечный анастомоз при колоректальном раке: непосредственные результаты. *Колопроктология*. 2016; №1, с. 48–53.

2. Kanellos I, Vasiliadis K, Angelopoulos S, et al. Anastomotic leakage following anterior resection for rectal cancer. *Tech Coloproctol*. 2004;8(suppl 1):79–81. <https://doi.org/10.1007/s10151-004-0119-8>

3. Половинкин В.В., Порханов В.А., Хмелик С.В., Щерба С.Н., и соавт. Превентивная стома после низких передних резекций прямой кишки: улучшаем результаты или перестраховываемся? *Колопроктология*. 2016; №1, с.16-21. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2016-0-1-16-21>
4. Малков И.С., Филиппов В.А., Коробков В.Н., Тагиров М.Р. Распространенный перитонит: эволюция методов хирургического лечения. *Практическая Медицина*. 2017; №6(107). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rasprostranennyu-peritonit-evolyutsiya-metodov-hirurgicheskogo-lecheniya> (дата обращения: 07.07.2020).
5. Синенченко Г.И., Перегудов С.И. Госпитальная инфекция у больных с разлитым перитонитом. *Инфекции в хирургии*. 2009; №3, с.40-42.
6. Blumetti J, &Abcarian H. Management of low colorectal anastomotic leak: Preserving the anastomosis. *World journal of gastrointestinal surgery*. 2015; 7(12), 378-383. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v7.i12.378>
7. Kulu Y, Ulrich A, Bruckner T, Contin P, et al. Validation of the International Study Group of Rectal Cancer definition and severity grading of anastomotic leakage. *Surgery*. 2013;153(6):753-761. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2013.02.007>
8. Ахметзянов Ф.Ш., Егоров В.И., Фомин А.И., Кокшин А.В. Прогностическая модель несостоятельности швов колоректального анастомоза. *Новости хирургии*. 2018; №26(6), с.707-714.
9. Lindgren R, Hallböök O, Rutegård J, Sjö Dahl R, et al. What is the risk for a permanent stoma after low anterior resection of the rectum for cancer? A six-year follow-up of a multicenter trial. *Dis Colon Rectum*. 2011;54:41-47.
10. Wallace B, Schuepbach F, Gaukel S, Marwan AI, et al. Evidence according to Cochrane Systematic Reviews on Alterable Risk Factors for Anastomotic Leakage in Colorectal Surgery. *Gastroenterol Res Pract*. 2020;2020:9057963. Published 2020 Jan 3. doi:10.1155/2020/9057963
11. Fracalvieri D, Biondo S, Saez J, Millan M, et al. Management of colorectal anastomotic leakage: Differences between salvage and anastomotic takedown. *Am J Surg*. 2012;204(5):671-676. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2010.04.022>
12. Khan AA, Wheeler JMD, Cunningham C, et al. The management and outcome of anastomotic leaks in colorectal surgery. *Colorectal Dis*. 2008;10(6):587-592. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2007.01417.x>
13. Wu S-W, Ma C-C, Yang Y. Role of protective stoma in low anterior resection for rectal cancer: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(47):18031-18037. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.18031>
14. Шельгин Ю.А., Нарудов М.А., Пономаренко А.А., Алексеев М.В., и соавт. Метаанализ методов лечения несостоятельности колоректального анастомоза. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2018; №8, с.30-41. <https://doi.org/10.17116/hirurgia201808230>
15. Saur NM, Paulson EC. Operative Management of Anastomotic Leaks after Colorectal Surgery. *Clin Colon Rectal Surg*. 2019;32(3):190-195. doi:10.1055/s-0038-1677025
16. Thomas MS, Margolin DA. Management of Colorectal Anastomotic Leak. *Clin Colon Rectal Surg*. 2016;29(2):138-144. doi:10.1055/s-0036-1580630
17. Mussetto A, Arena R, Buzzi A, et al. Long-term efficacy of vacuum-assisted therapy (Endo-SPONGE®) in large anastomotic leakages following anterior rectal resection. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(6):649-653. doi:10.20524/aog.2017.0194
18. Clifford RE, Fowler H, Govindarajah N, Vimalachandran D, et al. Early anastomotic complications in colorectal surgery: a systematic review of techniques for endoscopic salvage. *Surg Endosc*. 2019;33(4):1049-1065. doi:10.1007/s00464-019-06670-9
19. Shalaby M, Emile S, Elfeki H, Sakr A, et al. Systematic review of endoluminal vacuum-assisted therapy as salvage treatment for rectal anastomotic leakage. *BJS Open*. 2018;3(2):153-160. Published 2018 Dec 26. doi:10.1002/bjs5.50124
20. Абдоминальная хирургия. Национальное руководство: краткое издание / Под ред. И.И.Затевахиной, А.И.Кириенко, В.А.Кубышкина. М.:ГЭОТАР-Медиа, 912 с.
21. Неотложная абдоминальная хирургия: Методическое руководство для практикующего врача / Под ред. акад. РАН Затевахиной И.И., акад. РАН Кириенко А.И., чл.-корр. РАН Сажина А.В. М.: ООО «Медицинское информационное агентство». 2018; 488 с

## REFERENCES

1. Kit O.I., Gevorkyan Y.A., Soldatkina N.V., et al. Stapling interintestinal anastomosis in colorectal cancer: short-term results. *Koloproktologia*. 2016; no. 1, pp. 48-53. (In Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2016-0-1-48-53>
2. Kanellos I, Vasiliadis K, Angelopoulos S, et al. Anastomotic leakage following anterior resection for rectal cancer. *Tech Coloproctol*. 2004;8(suppl 1):79-81. <https://doi.org/10.1007/s10151-004-0119-8>
3. Polovinkin V.V., Porkhanov V.A., Khmelik S.V., et al. Preventive stoma after low anterior resection of the rectum: improving the results or being overcautious? *Koloproktologia*. 2016; no. 1, pp. 16-21. (In Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2016-0-1-16-21>
4. Malcov I.S., Filippov V.A., Korobkov V.N., et al. Generalized peritonitis: evolution of surgical treatment methods. *Practical medicine*. 2017; no. 6 (107), pp. 46-49. (In Russ.).
5. Sinenchenko G.I., Peregudov S.I. Hospital infection in patients with diffuse peritonitis. *Infections in surgery*. 2009; no. 3, pp. 40-42. (in Russ.)
6. Blumetti J, &Abcarian H. Management of low colorectal anastomotic leak: Preserving the anastomosis. *World journal of gastrointestinal surgery*. 2015; 7(12), 378-383. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v7.i12.378>
7. Kulu Y, Ulrich A, Bruckner T, Contin P, et al. Validation of the International Study Group of Rectal Cancer definition and severity grading of anastomotic leakage. *Surgery*. 2013;153(6):753-761. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2013.02.007>
8. Akhmetzyanov F.Sh., Egorov V.I., Fomin A.I., et al. Prognostic Model of Colorectal Anastomosis Sutures Failure. *News of surgery*. 2018; no. 26 (6), pp. 707-714. (in Russ.).
9. Lindgren R, Hallböök O, Rutegård J, Sjö Dahl R, et al. What is the risk for a permanent stoma after low anterior resection of the rectum for cancer? A six-year follow-up of a multicenter trial. *Dis Colon Rectum*. 2011;54:41-47.
10. Wallace B, Schuepbach F, Gaukel S, Marwan AI, et al. Evidence according to Cochrane Systematic Reviews on Alterable Risk Factors for Anastomotic Leakage in Colorectal Surgery. *Gastroenterol Res Pract*. 2020;2020:9057963. Published 2020 Jan 3. doi:10.1155/2020/9057963
11. Fracalvieri D, Biondo S, Saez J, Millan M, et al. Management of colorectal anastomotic leakage: Differences between salvage and anastomotic takedown. *Am J Surg*. 2012;204(5):671-676. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2010.04.022>
12. Khan AA, Wheeler JMD, Cunningham C, et al. The management and outcome of anastomotic leaks in colorectal surgery. *Colorectal Dis*. 2008;10(6):587-592. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2007.01417.x>
13. Wu S-W, Ma C-C, Yang Y. Role of protective stoma in low anterior resection for rectal cancer: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(47):18031-18037. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.18031>
14. Shelygin Yu.A., Nagudov M.A., Ponomarenko A.A. et al. Meta-analysis of management of colorectal anastomotic leakage. *Khirurgiia (Mosk)*. 2018; no. 8. vyp. 2, pp. 30-41. (in Russ.). <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2010.04.022>

---

org/10.17116/hirurgia201808230

15. Saur NM, Paulson EC. Operative Management of Anastomotic Leaks after Colorectal Surgery. *Clin Colon Rectal Surg.* 2019;32(3):190-195. doi:10.1055/s-0038-1677025

16. Thomas MS, Margolin DA. Management of Colorectal Anastomotic Leak. *Clin Colon Rectal Surg.* 2016;29(2):138-144. doi:10.1055/s-0036-1580630

17. Mussetto A, Arena R, Buzzi A, et al. Long-term efficacy of vacuum-assisted therapy (Endo-SPONGE®) in large anastomotic leakages following anterior rectal resection. *Ann Gastroenterol.* 2017;30(6):649-653. doi:10.20524/aog.2017.0194

18. Clifford RE, Fowler H, Govindarajah N, Vimalachandran D, et al. Early anastomotic complications in colorectal surgery: a systematic

review of techniques for endoscopic salvage. *Surg Endosc.* 2019;33(4):1049-1065. doi:10.1007/s00464-019-06670-9

19. Shalaby M, Emile S, Elfeki H, Sakr A, et al. Systematic review of endoluminal vacuum-assisted therapy as salvage treatment for rectal anastomotic leakage. *BJS Open.* 2018;3(2):153-160. Published 2018 Dec 26. doi:10.1002/bjs5.50124

20. Abdominal surgery. National guidelines: short edition / Ed. I.I.Zatevakhina, A.I. Kirienko, V.A.Kubyshkina. M.: GEOTAR-Media, 912 p. (in Russ.).

21. Emergency Abdominal Surgery: A Methodological Guide for a Practitioner / Ed. acad. RAS Zatevakhin I.I., acad. RAS Kirienko A.I., corresponding member RAS Sazhin A.V. M. : LLC "Medical Information Agency", 2018; 488 p. (in Russ.).

# ГЕМИКОЛЭКТОМИЯ С РАСШИРЕННОЙ ЛИМФОДИСЕКЦИЕЙ ПРИ ОБРАТНОМ РАСПОЛОЖЕНИИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

Шахматов Д.Г.<sup>1,2</sup>, Сайфутдинова К.Р.<sup>2</sup>, Елигулашвили Р.Р.<sup>1</sup>, Муратов И.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России (ул.Саляма Адиля, д.2, Москва, 123423, Россия)

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, (ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, г.Москва, 125993, Россия)

*Впервые описана резекция толстой кишки по поводу рака у пациентки с частичным обратным расположением внутренних органов. Пациентке, 78 лет, с транспозицией органов брюшной полости и левокардией выполнена гемиколэктомия с D3 лимфодиссекцией по поводу рака восходящей ободочной кишки, расположенной слева. Интраоперационных осложнений не было, однако вмешательство сопровождалось техническими сложностями, обусловленными выраженным спаечным процессом в брюшной полости после ранее перенесенной холецистэктомии. Случай демонстрирует приверженность принципам онкологического радикализма у пациентов с аномалиями. С целью планирования адекватного объема операции и минимизации интра- и послеоперационных осложнений представляется целесообразным использовать высокотехнологичные методы диагностики, включая КТ-реконструкцию сосудов и других анатомических структур в области хирургического вмешательства.*

**[Ключевые слова: гемиколэктомия, рак ободочной кишки, транспозиция внутренних органов, D3 лимфодиссекция, левокардия]**

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

От пациентки было получено письменное информированное согласие на публикацию данного клинического случая. Анонимность пациентки сохранена. Для публикации этого случая одобрение этического комитета не требовалось.

Для цитирования: Шахматов Д.Г., Сайфутдинова К.Р., Елигулашвили Р.Р., Муратов И.И. Гемиколэктомия с расширенной лимфодиссекцией при обратном расположении внутренних органов. *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 107-114. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-107-114>

## HEMICOLECTOMY WITH EXTENDED LYMPH NODE DISSECTION IN PATIENT WITH SITUS VISCERUM INVERSUS

Dmitry G. Shakhmatov<sup>1,2</sup>, Karina R.Saifutdinova<sup>2</sup>, Revaz R.Eligulashvili<sup>1</sup>, Ilgiz I.Muratov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of Russia (Barrikadnaya str., 2/1-1, Moscow, 125993, Russia)

*Colorectal resection for cancer in a patient with partial situs inversus was described for the first time. Hemicolectomy with D3 lymph node dissection for left-sided ascending colon cancer was performed in a 78-year-old woman with abdominal organ transposition and laevocardia. There were no intraoperative complications, but the procedure was technically challengeable due to advanced adhesions in the abdomen after the previous cholecystectomy. The case illustrates following the oncological principles in patients with abnormality. In order to determine proper volume of surgery and to minimize risk of intra- and postoperative complications, application of high-tech diagnostic tools is preferable, including CT reconstruction of vessels and other anatomical structures situated in the surgical site.*

**[Key words: hemicolectomy, colon cancer, situs inversus, D3 lymph node dissection, laevocardia]**



For citation: Shakhmatov D.G., Saifutdinova K.R., Eligulashvili R.R., Muratov I.I. Hemicolectomy with extended lymph node dissection in patient with situs viscerum inversus. *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 107-114. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-107-114>

Адрес для переписки: Дмитрий Геннадьевич Шахматов, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России, ул. Саляма Адилы, д. 2, Москва, 123423, Россия; тел. +7-903-565-14-41, e-mail: [mma02@yandex.ru](mailto:mma02@yandex.ru).

Address for correspondence: Shakhmatov D.G., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: [mma02@yandex.ru](mailto:mma02@yandex.ru)

Дата поступления – 15.07.2020  
Received – 15.07.2020

После доработки – 08.09.2020  
Revised – 08.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020  
Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Обратное (зеркальное) расположение внутренних органов или транспозиция внутренних органов (ТВО) – это редкое врожденное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, при котором органы брюшной и грудной полости занимают диаметрально противоположное место по сравнению с их нормальным топографо-анатомическим положением. При этой аномалии сердце, селезенка, желудок и аорта локализируются справа, а печень и нижняя полая вена – слева [1]. Транспозиция внутренних органов может быть полной, когда органы грудной клетки и брюшной полости расположены зеркально – situs inversus totalis, и частичной – инвертированы органы только одной из областей [2]. Данная аномалия часто сопровождается врожденными пороками сердца (3-8%), аспленией или полиспленией, билиарной атрезией [3-5]. В настоящее время отсутствуют достоверные сведения о частоте встречаемости этого состояния. Имеющиеся в литературе данные чаще всего основываются на работах Campbell M., который анализировал опыт лечения пациентов с пороками сердца в 50-60-х годах прошлого века [6]. Считается, что ТВО отмечается у 0,8-1 из 10-20 тысяч новорожденных, при этом наблюдается преобладание мужского пола 3:2 [7,8]. По данным Choi D.H. и соавт., ТВО была зарегистрирована в 5 случаях из 34723 взрослых пациентов, проходивших колоноскопию в Корейском национальном онкологическом центре [9]. Следует отметить, что сочетание ТВО с расположением сердца в левой половине грудной клетки (левокардией) встречается значительно реже, чем полное обратное расположение внутренних органов [10]. При этом важным отличием варианта аномалии с левокардией является высокая частота сопутствующих заболеваний сердца (95%), что зачастую определяет малую продолжительность жизни таких пациентов [11]. По сообщению Beck C., одним из наиболее ранних достоверных описаний случаев ТВО была аномалия,

выявленная у Марии Медичи, королевы Франции (1575-1642 г.) [12]. Ранее ТВО у животных отмечалась Аристотелем, а у человека обратное расположение внутренних органов, диагностированное при аутопсии, описывали Hieronymus Fabricius в 1600 г. и Petrus Servius в 1615 г. [13]. При дальнейшем изучении литературы мы выявили, что первое упоминание частичной ТВО при жизни встречается в работе Kuchenmeister F. в конце XIX века [14]. В последующее столетие был опубликован ряд небольших серий подобных наблюдений [2,6,15].

На сегодняшний день в научной информационной среде все чаще появляются публикации, посвященные описанию различных оперативных вмешательств у пациентов с ТВО, поскольку данная аномалия предполагает технические сложности в ходе выполнения хирургической операции [16]. По результатам проведенного нами поиска в зарубежной литературе, описание хирургического лечения колоректального рака (КРР) у таких пациентов представлено лишь в 10 работах [17-19]. В изученных нами отечественных источниках приводится опыт различных операций на органах брюшной полости [20-22], однако не было обнаружено ни одного упоминания о резекции толстой кишки.

В ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России ежегодно выполняется свыше 1400 резекций толстой кишки по поводу рака, при этом за всю историю клиники был зарегистрирован единственный случай операции у пациентки с частичным обратным расположением внутренних органов.

В связи с редкостью сочетания ТВО с КРР и отсутствием описания подобных случаев в отечественной литературе, а также ввиду особенностей в тактике хирургического лечения и периоперационного ведения, демонстрация данного наблюдения, на наш взгляд, представляет определенный интерес.

Работа составлена в соответствии с рекомендациями по описанию случаев хирургического лечения SCARE [23].



## Роль комплексного нейрофизиологического исследования в диагностике нейропатии полового нерва у пациенток с пролапсом тазовых органов и болевым синдромом

DOI

<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.6.72-79>

Фоменко О.Ю., Ачкасов С.И., Краснопольский В.И., Мартынов М.Ю., Порядин Г.В., Попов А.А., Салмаси Ж.М., Белоусова С.В., Алешин Д.В., Козлов В.А., Федоров А.А., Некрасов М.А., Ефремова Е.С.

— 1) ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, Москва, Россия;  
2) ГБУЗ МО МОНИИАГ, Москва, Россия;  
3) ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

**Цель.** Оценка роли комплексного нейрофизиологического исследования для выявления нейропатии полового нерва у пациенток с болевым синдромом на фоне пролапса тазовых органов.

**Материалы и методы.** Обследованы 44 пациентки с пролапсом тазовых органов и болевым синдромом в области органов малого таза и промежности. Все пациентки были комплексно обследованы в объеме: физикальный осмотр, колоноскопия, дефекография, комплексная сфинктерометрия и комплексное нейрофизиологическое обследование в виде стимуляционной электронейромиографии (ЭМГ) для изучения латентного периода проведения возбуждения по двигательным нервам (латентность М-ответа), а также глубокого пудендального (ГПР) и бульбокавернозного рефлексов (БКР).

**Результаты.** Нейропатия у пациенток с болевым синдромом на фоне пролапса тазовых органов монотерально или билатерально по данным нейрофизиологического исследования встречается во всех наблюдениях. У 65,9% больных нейропатия может быть диагностирована по увеличению латентности М-ответа (в совокупности с изменением показателей БКР/ГПР), в то время как в 34,1% случаев данное состояние регистрируется только по нарушению параметров ГПР и БКР.

**Заключение.** В алгоритм нейрофизиологического исследования у пациенток с болевым синдромом на фоне пролапса тазовых органов могут быть включены, помимо изучения латентности М-ответа, оценка смешанного возвратно-рефлекторного ответа в виде ГПР, а также изучение БКР.

**Ключевые слова:** пролапс тазовых органов, недержание кишечного содержимого, нейропатия полового нерва, стимуляционная электронейромиография, электрод Св. Марка, нейрофизиологическое исследование, смешанный возвратно-рефлекторный ответ, бульбокавернозный рефлекс



**ПРЕЗИДЕНТ**  
 Ассоциации колопроктологов России  
 профессор Юрий Анатольевич Шельгин

[www.akr-online.ru](http://www.akr-online.ru)

Общероссийская общественная организация «Ассоциация колопроктологов России», созданная 3 октября 1991 г. по инициативе врачей-колопроктологов РФ, является уникальной в своей сфере и одной из старейших общественных медицинских ассоциаций. На данный момент в Ассоциации состоит более 800 колопроктологов практически из всех субъектов РФ

**ОСНОВНЫЕ ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ОРГАНИЗАЦИИ**

- совершенствование и улучшение лечебно-диагностической помощи больным с заболеваниями толстой кишки, анального канала и промежности;
- профессиональная подготовка, специализация, сертификация и усовершенствование врачей-колопроктологов и повышение их профессионального, научного и интеллектуального уровня;
- защита профессиональных и личных интересов врачей-колопроктологов в государственных, общественных и иных организациях в РФ и за рубежом;
- разработка и внедрение новых организационных и лечебно-диагностических технологий и более рациональных форм организации помощи колопроктологическим больным в практику работы региональных колопроктологических центров, отделений и кабинетов;
- издание научно-практического медицинского журнала «Колопроктология», входящего в перечень рецензируемых журналов и изданий ВАК Министерства образования и науки РФ;
- международное сотрудничество с организациями и объединениями колопроктологов и врачей смежных специальностей, участие в организации и работе различных зарубежных конференций;
- организация и проведение Всероссийских Съездов колопроктологов, а также общероссийских межрегиональных и региональных конференций, симпозиумов и семинаров по актуальным проблемам колопроктологии.

Членами Ассоциации могут быть граждане РФ и иностранные граждане, имеющие высшее медицинское образование, прошедшие специализацию по колопроктологии, работающие в области колопроктологии не менее 3-х лет, признающие Устав организации и участвующие в ее деятельности

**ПРЕИМУЩЕСТВА ЧЛЕНСТВА В АССОЦИАЦИИ**

- более низкие регистрационные взносы на участие в Общероссийских научно-практических мероприятиях;
- бесплатная подписка и рассылка журнала «Колопроктология» (для не имеющих задолженности по уплате членских взносов);
- преимущества при зачислении на цикл повышения квалификации;
- информационная поддержка и юридически-правовая защита членов Ассоциации;
- членам Ассоциации выдается сертификат установленного Правлением образца

**ОБУЧЕНИЕ КОЛОПРОКТОЛОГОВ НА БАЗЕ ГНЦК**

Профессиональная переподготовка:

- Колопроктология
- Эндоскопия

Ординатура по специальности:

- 31.08.02 – анестезиология-реаниматология
- 31.08.11 – ультразвуковая диагностика
- 31.08.28 – гастроэнтерология
- 31.08.55 – колопроктология
- 31.08.70 – эндоскопия

Повышение квалификации:

- Колопроктология
- Эндоскопия
- Колоноскопия. Теория и практика выполнения
- Обеспечение анестезиологического пособия колопроктологическим больным
- Лапароскопические технологии в колопроктологии
- Функциональные методы диагностики и лечения болезней толстой кишки
- УЗ-методы диагностики в колопроктологии
- Гастроэнтерология

НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ОТДЕЛ:

123423, г. Москва, ул. Саляма Адила, д. 2, каб. №2 (цокольный этаж),  
 Заведующая учебной частью – Шадина Наталья Евгеньевна  
 тел.: +7(499)642-54-41 доб. 500  
 e-mail: edu@gnck.ru, info@gnck.ru



**АДРЕС АССОЦИАЦИИ**

123423, г. Москва, ул. Саляма Адила, д. 2

Тел.: 8(499)199-97-23  
 Факс: 8(499)199-04-09  
 E-mail: info@akr-online.ru

Главный бухгалтер:  
 Артамонова П.Ю.  
 polinav@mail.ru

**Реквизиты для уплаты членских взносов:**

ИНН 7734036405; КПП 773401001; БИК 044525411  
 Р/сч. 40703810300350000028  
 в Филиал «Центральный» Банка ВТБ (ПАО) г. Москва  
 к/сч. 30101810145250000411



## Клинический случай

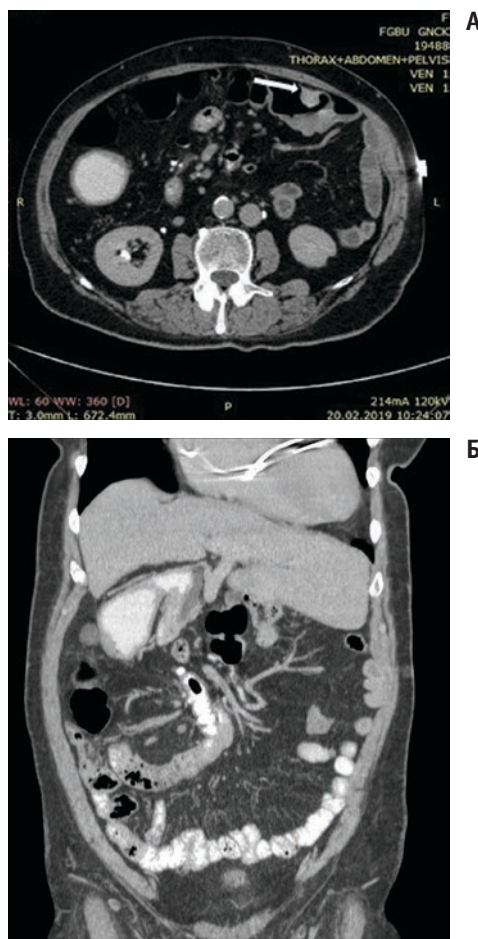
Больная М., 78 лет, в январе 2019 года обратилась к наблюдающему ее кардиологу с жалобами на общую слабость и быструю утомляемость, которые к тому моменту присутствовали в течение 6 месяцев.

Необходимо подчеркнуть, что значительную часть жизни пациентка не знала об аномалии развития и не отмечала каких-либо особенностей в состоянии здоровья, которые можно было бы связать с транспозицией внутренних органов. Однако в 1995 году по поводу повторяющихся приступообразных болей в животе, сопровождавшихся лихорадкой, была обследована, выявлено обратное расположение внутренних органов и признаки калькулезного холецистита. Произведена холецистэктомия верхнесрединным лапаротомным доступом. Медицинские документы не сохранились, однако из беседы с хирургом пациентка поняла, что операция была продолжительной и сопровождалась техническими сложностями.

Кроме того, пациентка длительно наблюдается в НМИЦ кардиологии в связи с нарушением ритма сердца. В 2017 году больная перенесла радиочастотную абляцию кава-трикуспидального истмуса по поводу персистирующего трепетания предсердий, а затем – имплантацию двухкамерного электрокардиостимулятора по поводу синдрома слабости синусового узла.

Принимая во внимание жалобы на слабость, пациентка была обследована, при этом признаков декомпенсации сердечно-сосудистых заболеваний и нарушения работы кардиостимулятора не было выявлено. В анализе крови отмечено снижение гемоглобина до 98 г/л, в связи с чем выполнена гастроскопия и колоноскопия, а также назначена консервативная терапия препаратами железа, на фоне которой анемия была скорректирована. При эндоскопическом исследовании пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки грубых отклонений от нормы не было обнаружено. В ходе колоноскопии констатировано удлинение толстой кишки, при этом в восходящей ободочной кишке визуализирована блюдцеобразная опухоль протяженностью около 5 см с неровной, изъязвленной, контактно кровоточащей поверхностью. При патоморфологическом исследовании биопсийного материала выявлены комплексы аденокарциномы. Пациентка обратилась в наш центр для дообследования и лечения.

При осмотре установлено, что пациентка нормостенического телосложения, обычного питания (индекс массы тела 24,6 кг/м<sup>2</sup>). Общее состояние признано удовлетворительным, 2 балла по шкале оценки статуса пациента ECOG [24]. Кожные покровы несколько бледной окраски. Одышки, расстройств гемодинамики не выявлено. Живот при осмотре симметричен, участвует в акте дыхания, при этом пальпация безбо-



**Рисунок 1.** Компьютерная томограмма пациентки М. Аксиальная (А) и фронтальная (Б) проекции. Стрелкой отмечена опухоль восходящей ободочной кишки

**Figure 1.** CT of patient M. Axial (A) and frontal (B) projections. The arrow marks the ascending colon

лезненна во всех отделах. Печеночная тупость выявляется слева, перкуторно край печени определяется на уровне реберной дуги. Рубец после верхнесрединной лапаротомии без признаков воспаления, грыжевых выпячиваний не определяется. При вагинальном и ректальном пальцевом исследовании патологических изменений не выявлено.

Основные лабораторные показатели в пределах референсных значений, также не отмечено повышение уровня онкомаркеров: СА 19-9 – 3 Ед/мл, РЭА – 1,4 нг/мл.

В ходе мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) грудной клетки отклонений от нормы не выявлено. При МСКТ брюшной полости и малого таза обращало на себя внимание зеркальное расположение внутренних органов по сравнению с нормальной локализацией. Толстая кишка удлинена, расположена нетипично: купол слепой кишки визуализировался в мезогастральной области слева. Опухоль протя-

женностью 3,5 см с утолщением стенки кишки до 1,0 см определялась в средней трети восходящей ободочной кишки, расположенной в левой подреберной области. Заподозрена инвазия опухоли в паракишечную клетчатку на глубину до 0,2 см. В брыжейке восходящей ободочной кишки визуализировались единичные лимфатические узлы до 0,4 см в диаметре с ровным контуром (Рис.1).

На этапе планирования оперативного вмешательства с целью улучшить ориентирование в брюшной полости и минимизировать риски интраоперационных осложнений была произведена 3D реконструкция сосудов брюшной полости и виртуальная колонография. Построенная 3D модель сосудов позволила проследить ход подвздошно-ободочной артерии, уточнить место ее отхождения от верхней брыжеечной артерии, при этом помимо зеркального расположения артерий существенных сосудистых аномалий выявлено не было (Рис.2).



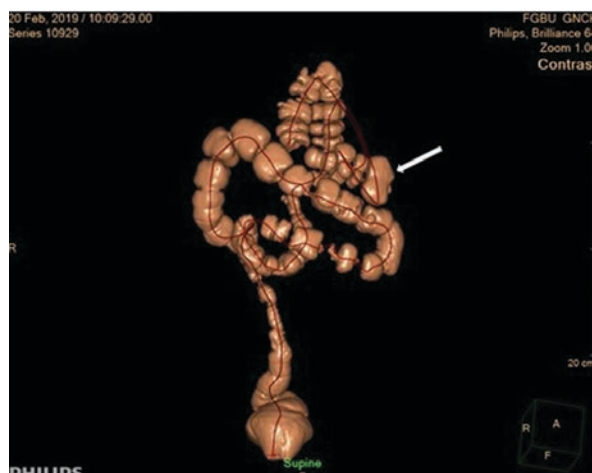
**Рисунок 2.** МСКТ 3D ангиография больной М. (А – аорта, ICA – подвздошно-ободочная артерия, SMA – верхняя брыжеечная артерия).

**Figure 2.** MSCT 3D angiography of patient M. (A - aorta, ICA - ileocolic artery, SMA - superior mesenteric artery)

Виртуальная колонография наглядно продемонстрировала удлинение ободочной кишки с формированием нетипичных изгибов и многоплоскостных петель (Рис.3).

Учитывая соответствие критериям включения, больной предложено участие в мультицентровом рандомизированном исследовании онкологических результатов выполнения D3 лимфодиссекции при раке ободочной кишки (COLD trial) [25]. Пациентка подписала добровольное информированное согласие и была рандомизирована в группу выполнения D3 лимфодиссекции.

28 февраля 2019 года произведена операция через лапаротомный доступ. При интраоперационной ревизи-



**Рисунок 3.** Виртуальная колонограмма пациентки М. Стрелкой указан купол слепой кишки, локализующийся в левой мезогастральной области

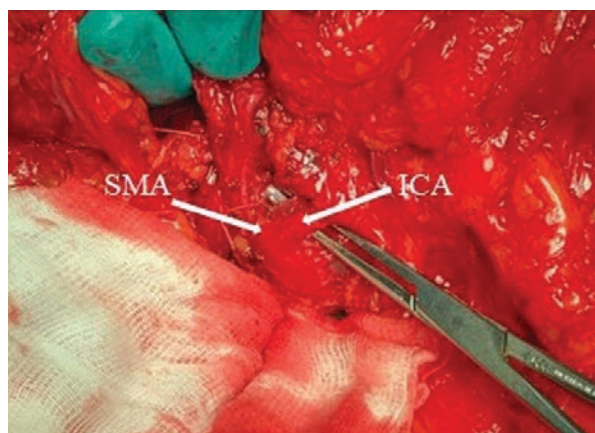
**Figure 3.** Virtual colonoscopy of patient M. The arrow shows the dome of the cecum, localized in the left mesogastric region

зии в брюшной полости визуализировано обратное расположение внутренних органов: печень и нижняя полая вена располагались слева, желудок, селезенка и аорта – справа. Илеоцекальный отдел кишечника локализовался в левой боковой области. Восходящая ободочная кишка располагалась в левом подреберье, была фиксирована плотными рубцовыми спайками к ложу ранее удаленного желчного пузыря. В средней трети восходящей ободочной кишки пальпировалась плотная опухоль около 3 см в диаметре, не выходящая за пределы кишечной стенки. Увеличения лимфатических узлов по ходу брыжеечных сосудов не выявлено. Сигмовидная и поперечная ободочная кишка удлинены, образуют множественные петли, при этом отмечается сращение брыжеек толстой и тонкой кишки и их аномальное взаиморасположение, а также выраженный рубцово-спаечный процесс во всех отделах брюшной полости. После выполнения адгезиолизиса и повторной тщательной ревизии было принято решение выполнить хирургическое вмешательство в запланированном объеме.

Раздельно были выделены, лигированы и пересечены у основания подвздошно-ободочные (Рис.4) и правые ободочные (Рис.5) сосуды. При этом осуществлена лимфодиссекция в объеме D3.

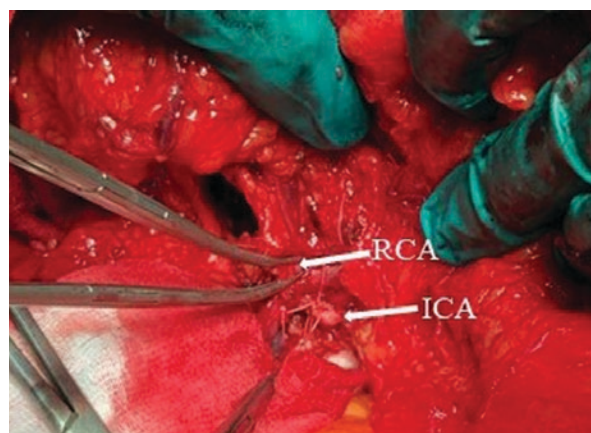
С техническими трудностями, обусловленными спаечным процессом и нетипичной анатомией, произведена мобилизация в эмбриональном слое с выполнением тотальной мезоколонэктомии. Мобилизованные отделы кишечника с опухолью резецированы на уровне намеченных границ: проксимальная – средняя треть поперечной ободочной кишки, дистальная – в 15 см проксимальнее илеоцекального перехода.





**Рисунок 4.** Интраоперационная фотография пациентки М. Лимфодиссекция в объеме D3 у места отхождения подвздошно-ободочной артерии. SMA – верхняя брыжеечная артерия, ICA – подвздошно-ободочная артерия.

**Figure 4.** Intraoperative photo of patient M. D3 lymphadenectomy at the origin of the ileocolic artery. SMA - superior mesenteric artery, ICA - ileocolic artery



**Рисунок 4.** Интраоперационная фотография пациентки М. Лимфодиссекция в объеме D3 у основания правой ободочной артерии. RCA – правая ободочная артерия, ICA – подвздошно-ободочная артерия.

**Figure 5.** Intraoperative photo of patient M. D3 lymphadenectomy at the base of the right colic artery. RCA - right colic artery, ICA - ileocolic artery

Операция завершена формированием двухрядного илео-трансверзоанастомоза по типу «конец-в-конец» ручным способом с последующим послойным ушиванием лапаротомной раны. Продолжительность операции составила 405 минут, интраоперационная кровопотеря оценена в 200 мл.

На 4 сутки послеоперационного периода у пациентки развился парез желудочно-кишечного тракта, что потребовало установки назогастрального зонда для декомпрессии желудка и назоинтестинального зонда для адекватного энтерального кормления. На фоне развившегося осложнения и связанного с ним нарушения водно-электролитного баланса у больной четырежды возникали симптомные пароксизмы мерцательной аритмии, сопровождающиеся резкой слабостью. В связи с этим пациентка неоднократно переводилась в отделение реанимации, где проводилась коррекция водно-электролитных нарушений и медикаментозная кардиоверсия.

Пациентка выписана в удовлетворительном состоянии на 23-й день после операции на фоне разрешения пареза желудочно-кишечного тракта и нормализации сердечного ритма.

По данным патоморфологического исследования операционного препарата, опухоль представлена слизистой аденокарциномой толстой кишки на фоне ворсинчатой аденомы с обширными изъязвлениями и признаками лимфоваскулярной инвазии в пределах роста опухоли, в 49 лимфатических узлах брыжейки правых отделов ободочной кишки метастазов не выявлено. Таким образом, в соответствии с актуальной классификацией TNM, опухоль стадирована как pT3N0M1 G3.

Лимфоваскулярная инвазия и слизееобразующая форма опухоли являются формальным показанием к адьювантному лечению, в связи с чем рассматривался вариант проведения монотерапии капецитабином. Однако, принимая во внимание наличие сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний и высокий риск жизнеугрожающих осложнений, химиотерапия не проводилась.

Пациентка регулярно проходит контрольные обследования. Уровень онкомаркеров РЭА и СА19-9 в крови не превышает референсных значений. При комплексном инструментальном обследовании через 10 месяцев после операции, включавшем тотальную колоноскопию, а также МСКТ грудной клетки, брюшной полости и малого таза, признаков возврата заболевания не выявлено.

Пациентка продолжает наблюдение у кардиолога, пароксизмов фибрилляции предсердий не отмечает.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Приведенный случай выполнения резекции толстой кишки с расширенной лимфодиссекцией у пациентки с обратным расположением внутренних органов иллюстрирует две тенденции в современной онкокопроктологии – стандартизацию лечения и персонализированный подход.

Разработка стандартизованных методов выполнения операций, включая выбор объема лимфодиссекции, базирующаяся на мультицентровых исследованиях с высоким уровнем доказательности, как ожидается, улучшит результаты лечения больных колоректаль-

ным раком. Одно из таких перспективных исследований - COLD trial организовано с целью ответить на длительно дискутируемый вопрос, какой объем лимфодиссекции оптимально выполнять при операциях по поводу рака ободочной кишки. В настоящее время опубликованы предварительные результаты, указывающие на улучшение стадирования заболевания за счет D3 лимфодиссекции при отсутствии явного увеличения числа осложнений [25]. Персонализированный подход в стандартных случаях зачастую носит декларативный характер, однако у представленной пациентки, учитывая ее выраженные анатомические особенности, был реализован за счет активного обсуждения тактики лечения как на этапе подготовки к операции, так и интраоперационно, а также после вмешательства. С целью качественного планирования хирургического вмешательства ей выполнена КТ ангиография и виртуальная колонография, что коррелирует с литературными данными. Так на основании своего опыта выполнения резекции желудка у пациента с ТВО Yamaguchi S. и соавт. (2003) сообщили, что трехмерная реконструкция сосудистого русла брюшного отдела аорты при КТ ангиографии была полезна для предоперационного выявления сосудистых мальформаций [26]. На сегодняшний день мультиспиральная компьютерная томография сосудов с 3D реконструкцией признана «золотым стандартом» неинвазивной визуализации данных структур. В представленном случае, наряду с КТ ангиографией, выполнена КТ колонография, при которой определялось не только зеркальное расположение органов брюшной полости, но и выявлено удлинение ободочной кишки с образованием многоплоскостных петель. Вопрос доступа при резекциях толстой кишки часто является предметом для дискуссий, однако у представленной пациентки мы сразу отказались от лапароскопического вмешательства, учитывая сочетание аномалии развития с ожидаемым выраженным спаечным процессом после ранее перенесенной холецистэктомии из срединной лапаротомии. Принимая во внимание адекватную визуализацию верхней брыжеечной артерии и ее ветвей при КТ ангиографии, отсутствие сосудистых аномалий, мы не трактовали особенности пациентки как противопоказание к расширенной лимфодиссекции. Пациентка согласилась на предложение участвовать в исследовании COLD trial, при этом посредством рандомизации была определена в группу D3 лимфодиссекции. На наш взгляд, выполнение расширенной лимфодиссекции не внесло существенный вклад в большую продолжительность вмешательства, так как основные технические сложности и временные затраты были связаны с разделением множественных плотных спаек в брюшной полости. По всей видимости, этим же были обуслов-

лены и явления пареза желудочно-кишечного тракта в послеоперационном периоде и, в свою очередь, пароксизмы фибрилляции предсердий.

В конечном счете хирургическое лечение было проведено в соответствии с разработанным планом, а описанные осложнения были до определенной степени закономерны и едва ли могли быть предотвращены путем изменения объема резекции.

Еще одним дискуссионным вопросом лечения рака толстой кишки является адьювантная химиотерапия. Поскольку лимфоваскулярная инвазия опухоли и степень дифференцировки G3 при второй стадии заболевания в настоящее время рассматривается как показание к адьювантному лечению, последнее было рекомендовано химиотерапевтом. Однако фактически химиотерапия не проводилась, в том числе из-за опасения кардиотоксических эффектов, поскольку именно при данном крайне редком варианте аномалии с левокардией (частичная ТВО) сердце скомпрометировано в отличие от ТВО с дэкстрокардией, для которой кардиопатия не характерна.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное наблюдение представляется первой отечественной работой, в которой описано выполнение резекции толстой кишки с расширенной лимфодиссекцией при зеркальном расположении внутренних органов. Случай иллюстрирует сложность соблюдения принципов онкологического радикализма у нестандартных пациентов. Вместе с тем, на наш взгляд, у подавляющего большинства больных колоректальным раком твердая нацеленность на радикальное выполнение хирургического вмешательства оправдана. При этом для снижения риска интраоперационных осложнений на этапе подготовки и планирования вмешательства следует использовать современный диагностический арсенал высокотехнологичных методов, включая КТ ангиографию и КТ колонографию.

### УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: *Шахматов Д.Г., Муратов И.И.*

Сбор и обработка материала: *Муратов И.И., Сайфутдинова К.Р., Елигулашвили Р.Р.*

Написание текста: *Муратов И.И., Сайфутдинова К.Р.*

Редактирование: *Шахматов Д.Г.*

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Shakhmatov D.G., Muratov I.I.*

Collection and processing of the material: Muratov I.I., Saifutdinova K.R., Eligulashvili R.R.  
Writing of the text: Muratov I.I., Saifutdinova K.R.  
Editing: Shakhmatov D.G.

Елигулашвили Р.Р. 0000-0001-9885-6824  
Муратов И.И. 0000-0002-0925-2680

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

ORCID

Шахматов Д.Г. 0000-0001-7964-2126

Сайфутдинова К.Р. 0000-0001-6532-8507

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

ORCID

Shahmatov D.G. 0000-0001-7964-2126

Saifutdinova K.R. 0000-0001-6532-8507

Eligulashvili R.R. 0000-0001-9885-6824

Muratov I.I. 0000-0002-0925-2680

## ЛИТЕРАТУРА

1. Blegen HM. Surgery in situs inversus. *Annals of surgery*. 1949;129(2):244. DOI: 10.1097/0000658-194902000-00009
2. Liberthson RR, Hastreiter AR, Sinha SN et al. Levocardia with visceral heterotaxy - isolated levocardia: pathologic anatomy and its clinical implications. *American Heart Journal*. 1973;85(1):40-54. DOI:10.1016/0002-8703(73)90524-3
3. Лимаренко М.П., Бордюгова, Е.В., Смирнова, Т.В. и соавт. Клинический случай сочетания врожденного порока сердца и обратного расположения внутренних органов у подростка. *Здоровье ребенка*. 2015; №3(63), с. 113-117.
4. Fonkalsrud EW, Tompkins R, Clatworthy HW. Abdominal manifestations of situs inversus in infants and children. *Archives of Surgery*. 1966;92(5):791-795. DOI: 10.1001/archsurg.1966.01320230139025
5. Lineback PE. et al. An extraordinary case of situs inversus viscerumtotalis. *JAMA*. 1920; v.75, № Dec. 25: p.1775.
6. Campbell M. The mode of inheritance in isolated laevocardia and dextrocardia and situs inversus. *British heart journal*. 1963; 25(6):803. DOI:10.1136/hrt.25.6.803
7. Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Advances in experimental medicine and biology*. 2010; 686: 349-364. DOI:10.1007/978-90-481-9485-8\_20
8. EUROCAT. European Platform on Rare Disease Registration <https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat/eurocat-data/prevalence>. Accessed 29 May 2020
9. Choi DH, Park JW, Kim BN. et al. Colonoscopy in situs inversus totalis patients. *American Journal of Gastroenterology*. 2008;103(5):1311-1312. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01782\_6.x
10. Белоконь Н.А., Подзолков В.П. Врожденные пороки сердца. М., Медицина. 1991; с.315.
11. Tonkin IL. The definition of cardiac malpositions with echocardiography and computed tomography. *Pediatric cardiac imaging*. 1984; с.157-187.
12. Beck C. VI. A Case of Transposed Viscera, with Cholelithiasis, relieved by a Left-Sided Cholecystostomy. *Annals of surgery*. 1899; 29(5):593.
13. Sherk HH. et al. Total transposition of viscera. *Transactions of the Southern Surgical Association*. 1922; 34:255.
14. Küchenmeister F. Die angeborne, vollständigeseitliche Verlagerung der Eingeweide des Menschen (situs viscerumtotalis lateralis rarior, solito inversus). The Stauffer, 1888.
15. Stanger P, Rudolph AM, Edwards JE. Cardiac malpositions. An overview based on study of sixty-five necropsy specimens. *Circulation*. 1977; 56(2):159-172. DOI:10.1161/01.cir.56.2.159
16. Kobus C, Targarona EM, Bendahan GE. et al. Laparoscopic surgery in situs inversus: a literature review and a report of laparoscopic sigmoidectomy for diverticulitis in situs inversus. *Langenbeck's archives of surgery*. 2004; 389(5): 396-399. DOI: 10.1007/s00423-004-0500-0
17. Fujiwara Y, Fukunaga Y, Higashino M. et al. Laparoscopic hemicolectomy in a patient with situs inversus totalis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2007;13(37): 5035. DOI: 0.3748/wjg.v13.i37.5035.
18. Iwamura T, Shibata N, Haraguchi Y. et al. Synchronous double cancer of the stomach and rectum with situs inversus totalis and polysplenia syndrome. *Journal of clinical gastroenterology*. 2001; 33(2): 148-153. DOI:10.1097/00004836-200108000-00012
19. Kim HJ, Choi GS, Park JS. et al. Laparoscopic right hemicolectomy with D3 lymph node dissection for a patient with situs inversus totalis: report of a case. *Surgery today*. 2011; 41(11):1538. DOI: 10.1007/s00595-010-4530-7
20. Луцевич О.Э., Толстых М.П., Вторенко В.И. и соавт. Хронический калькулезный холецистит у больных при полном обратном расположении органов. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2017; №3, с.97-101. DOI: 10.17116/hirurgia2017397-10
21. Готье С.В., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г. и соавт. Трансплантация левой доли печени от аb0-несовместимого родственного донора с транспозицией внутренних органов (situs inversus). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015; т.16, №4, с.106-110. DOI:10.15825/1995-1191-2014-4-106-110
22. Баймаков С.Р., Жамилов У.Р., Юнусов С.Ш. и соавт. Сочетание острого аппендицита с перекрутом и некрозом жирового подвеса толстой кишки при транспозиции внутренних органов. *Вестник хирургии имени И.И. Грекова*. 2020; т.179, №1, с. 74-77. DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-1-74-77
23. Agha RA, Borrelli MR, Farwana R, et al. The SCARE 2018 statement: Updating consensus Surgical Case Report (SCARE) guidelines. *Int J Surg*. 2018;60:132-136. DOI:10.1016/j.ijssu.2018.10.028
24. Oken MM, Creech RH, Tormey DC. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *American journal of clinical oncology*. 1982; 5(6):649-656.
25. Karachun A, Panaiotti L, Chernikovskiy I. et al. Short-term outcomes of a multicentre randomized clinical trial comparing D2 versus D3 lymph node dissection for colonic cancer (COLD trial). *British Journal of Surgery*. 2020;107(5): 499-508. DOI: 10.1002/bjs.11387
26. Yamaguchi S, Orita H, Yamaoka T. et al. Laparoscope-assisted distal gastrectomy for early gastric cancer in a 76-year-old man with situs inversus totalis. *Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques*. 2003; 17(2): 352-353. DOI: 10.1007/s00464-002-4504-y.

## REFERENCES

1. Blegen HM. Surgery in situs inversus. *Annals of surgery*. 1949;129(2):244. DOI: 10.1097/0000658-194902000-00009
2. Liberthson RR, Hastreiter AR, Sinha SN et al. Levocardia with visceral heterotaxy - isolated levocardia: pathologic anatomy and

- its clinical implications. *American Heart Journal*. 1973;85(1):40-54. DOI:10.1016/0002-8703(73)90524-3
3. Limarenko M.P., Bordjugova, E.V., Smirnova, T.V. et al. Klinicheskiy sluchaj sochetaniya vrozhdennogo poroka serdca I obratnogo raspolozheniya vnutrennih organov u podrostka. *Zdorov'e rebenka*. 2015; no.3(63), pp. 113-117. (In Russ.).
  4. Fonkalsrud EW, Tompkins R, Clatworthy HW. Abdominal manifestations of situs inversus in infants and children. *Archives of Surgery*. 1966;92(5):791-795. DOI: 10.1001/archsurg.1966.01320230139025
  5. Lineback PE. et al. An extraordinary case of situs inversus viscerumtotalis. *JAMA*. 1920; v.75, № Dec. 25: p.1775.
  6. Campbell M. The mode of inheritance in isolated laevocardia and dextrocardia and situs inversus. *British heart journal*. 1963; 25(6):803. DOI:10.1136/hrt.25.6.803
  7. Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Advances in experimental medicine and biology*. 2010; 686: 349-364. DOI:10.1007/978-90-481-9485-8\_20
  8. EUROCAT. European Platform on Rare Disease Registration <https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat/eurocat-data/prevalence>. Accessed 29 May 2020.
  9. Choi DH, Park JW, Kim BN. et al. Colonoscopy in situs inversus totalis patients. *American Journal of Gastroenterology*. 2008;103(5):1311-1312. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01782\_6.x
  10. Belokon' N.A., Podzolkov V.P. Vrozhdennye poroki serdtsa. M., Meditsina. 1991; p.315. (In Russ.).
  11. Tonkin IL. The definition of cardiac malpositions with echocardiography and computed tomography. *Pediatric cardiac imaging*. 1984; c.157-187.
  12. Beck C. VI. A Case of Transposed Viscera, with Cholelithiasis, relieved by a Left-Sided Cholecystostomy. *Annals of surgery*. 1899; 29(5):593.
  13. Sherk HH. et al. Total transposition of viscera. *Transactions of the Southern Surgical Association*. 1922; 34:255.
  14. Küchenmeister F. Die angeborne, vollständigeseitliche Verlagerung der Eingeweide des Menschen (situs viscerumtotalis lateralis rarior, solito inversus). The Stauffer, 1888.
  15. Stanger P, Rudolph AM, Edwards JE. Cardiac malpositions. An overview based on study of sixty-five necropsy specimens. *Circulation*. 1977; 56(2):159-172. DOI:10.1161/01.cir.56.2.159
  16. Kobus C, Targarona EM, Bendahan GE. et al. Laparoscopic surgery in situs inversus: a literature review and a report of laparoscopic sigmoidectomy for diverticulitis in situs inversus. *Langenbeck's archives of surgery*. 2004; 389(5): 396-399. DOI: 10.1007/s00423-004-0500-0
  17. Fujiwara Y, Fukunaga Y, Higashino M. et al. Laparoscopic hemicolectomy in a patient with situs inversus totalis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2007;13(37): 5035. DOI: 0.3748/wjg.v13.i37.5035
  18. Iwamura T, Shibata N, Haraguchi Y. et al. Synchronous double cancer of the stomach and rectum with situs inversus totalis and polysplenia syndrome. *Journal of clinical gastroenterology*. 2001; 33(2): 148-153. DOI:10.1097/00004836-200108000-00012
  19. Kim HJ, Choi GS, Park JS. et al. Laparoscopic right hemicolectomy with D3 lymph node dissection for a patient with situs inversus totalis: report of a case. *Surgery today*. 2011; 41(11):1538. DOI: 10.1007/s00595-010-4530-7
  20. Lutsevich O.E., Tolstykh M.P., Vtorenko V.I. et al. Chronic calculous cholecystitis in patients with situs viscerum inversus totalis. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2017; no.3, pp.97-101. (In Russ.). DOI: 10.17116/hirurgia2017397-10
  21. Gautier S.V., Tsirolnikova O.M., Akhaladze D.G. et al. Left lobe liver transplantation from ab0-incompatible living donor with situs inversus. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2014; no.16(4), pp.106-110. (In Russ.). DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-106-110
  22. Baymakov S.R., Zhamilov U.R., Yunusov S.S. et al. Combination of acute appendicitis with torsion and necrosis of epiploic appendage in the transposition of internal organs. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2020; no.179(1), pp.74-77. (In Russ.). DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-1-74-77
  23. Agha RA, Borrelli MR, Farwana R, et al. The SCARE 2018 statement: Updating consensus Surgical Case Report (SCARE) guidelines. *Int J Surg*. 2018;60:132-136. DOI:10.1016/j.ijso.2018.10.028
  24. Oken MM, Creech RH, Tormey DC. et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *American journal of clinical oncology*. 1982; 5(6):649-656.
  25. Karachun A, Panaiotti L, Chernikovskiy I. et al. Short-term outcomes of a multicentre randomized clinical trial comparing D2 versus D3 lymph node dissection for colonic cancer (COLD trial). *British Journal of Surgery*. 2020;107(5): 499-508. DOI: 10.1002/bjs.11387
  26. Yamaguchi S, Orita H, Yamaoka T. et al. Laparoscope-assisted distal gastrectomy for early gastric cancer in a 76-year-old man with situs inversus totalis. *Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques*. 2003; 17(2): 352-353. DOI: 10.1007/s00464-002-4504-y



# АНОПЛАСТИКА И БОКОВАЯ ПОДКОЖНАЯ СФИНКТЕРОТОМИЯ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АНАЛЬНОЙ ТРЕЩИНЫ (систематический обзор литературы и метаанализ)

Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России  
(ул. Саяма Адиля, д.2, Москва, 123423, Россия)

**ВВЕДЕНИЕ:** боковая подкожная сфинктеротомия (БПС) является «золотым стандартом» хирургического лечения хронической анальной трещины (ХАТ). Преимущество БПС перед другими оперативными методами лечения заключается в более высокой эффективности в отношении эпителизации послеоперационной раны и более низком риске развития рецидивов заболевания. Однако данная методика сопряжена с высоким риском развития послеоперационной недостаточности анального сфинктера (НАС). Анопластика (АП) – альтернативный хирургический метод, также направленный на лечение ХАТ, заключающийся в пластике дефекта местными тканями и позволяющий существенно снизить риск развития анальной инконтиненции.

**ЦЕЛЬ:** оценить непосредственные и отдаленные результаты лечения хронической анальной трещины с применением анопластики и боковой подкожной сфинктеротомии.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:** выполнен систематический обзор и метаанализ исследований, сравнивающих результаты лечения после проведения анопластики и боковой подкожной сфинктеротомии. Показатели, оцениваемые при анализе: частота эпителизации послеоперационной раны, частота развития недостаточности анального сфинктера, частота развития послеоперационных осложнений. Статистическая обработка данных при сравнении исследований, включенных в метаанализ, проводилась в программе Review Manager 5.3.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** в систематический обзор включено 4 исследования, включающие 278 пациентов. В группе АП шанс эпителизации трещины на 63% ниже, чем в группе БПС (ОШ=0,37; ДИ=0,19;0,74;  $p<0,005$ ). При анализе частоты послеоперационных осложнений статистических различий не выявлено (ОШ=1,43; ДИ=0,54;3,78;  $p=0,47$ ). Вероятность развития послеоперационной анальной инконтиненции на 94% выше в группе БПС, чем в группе АП (ОШ=0,06; ДИ=0,01;0,37;  $p=0,002$ ).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** боковая подкожная сфинктеротомия и анопластика являются эффективными методиками лечения ХАТ. Однако низкие и неоднозначные показатели качества исследований, посвященных сравнению этих методов, высокий риск смещения результатов в сравниваемых группах, а также гетерогенность публикаций, заставляя с осторожностью подходить к трактовке полученных данных и диктуют необходимость проведения дальнейших исследований.

[Ключевые слова: хроническая анальная трещина, боковая подкожная сфинктеротомия, анопластика, V-Y пластика, LIS, AAF]

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е. Анопластика и боковая подкожная сфинктеротомия в лечении хронической анальной трещины (систематический обзор литературы и метаанализ). *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 115-130. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-115-130>

## ANOPLASTY AND LATERAL INTERNAL SPHINCTEROTOMY FOR CHRONIC ANAL FISSURE (systematic review and meta-analysis)

Karina I.Arslanbekova, Roman Yu.Khryukin, Evgeniy E.Zharkov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology  
(Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**INTRODUCTION:** lateral internal sphincterotomy (LIS) is considered the "gold standard" therapy for chronic anal fissure (CAF). Advantages of LIS over other surgical techniques include higher rate of healing and lower risk of fissure recurrence. However, this procedure is associated with a high risk of anal incontinence (AI) in the postoperative period. Anal advancement flap (AAF) is an alternative surgical procedure for CAF, which requires the use of local flaps. Anal advancement flap is associated with a significantly lower risk of anal incontinence.

**AIM:** to compare short-term and long-term outcomes of anal advancement flap and lateral internal sphincterotomy in patients with chronic anal fissure.



**MATERIALS AND METHODS:** a systematic review and meta-analysis of studies comparing outcomes of anal advancement flap and lateral internal sphincterotomy were conducted. The following parameters were evaluated: the rate of epithelialization, the rate of anal incontinence, and the rate of postoperative complications. The statistical analysis was carried out using the Review Manager software 5.3.

**RESULTS:** the systematic review included four studies that presented the results of 278 patients. Compared with LIS, the odds for healing after AAF were 63% lower (OR=0.37; CI=0.19; 0.74; P<0.005). No significant differences in the rate of postoperative complications (OR=1.43; CI=0.54; 3.78; p=0.47) were found. Compared with AAF, the odds for anal incontinence after LIS were 94% higher (OR=0.06; CI=0.01; 0.37; p=0.002).

**CONCLUSION:** both lateral internal sphincterotomy and anal advancement flap are effective for CAF. However, considering the ambiguity and poor quality of data from the studies comparing these procedures, a high risk of bias for comparison groups and heterogeneity of the studies, the results should be interpreted with caution. Therefore, the aforementioned limitations dictate the need for further research.

**[Key words: chronic anal fissure, lateral subcutaneous sphincterotomy, anoplasty, V-Y plasty, LIS, AAF]**

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E. Anoplasty and lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure (systematic review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 115-130. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-115-130>

Адрес для переписки: : Арсланбекова К.И., ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России, ул. Саляма Адилы, д. 2, Москва, 123423, Россия, тел.: +7 (499) 199-04-09, e-mail: [info@gnck.ru](mailto:info@gnck.ru)

Address for correspondence: Arslanbekova K.I., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; +7 (499) 199-04-09, e-mail: [info@gnck.ru](mailto:info@gnck.ru)

Дата поступления – 03.08.2020  
Received – 03.08.2020

После доработки – 08.09.2020  
Revised – 08.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020  
Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Анальная трещина – это дефект анодермы, располагающийся в пределах «анатомического» анального канала. Течение данного заболевания может быть острым и хроническим. Наличие таких признаков, как рубцовые края дефекта, волокна внутреннего сфинктера в его дне, фиброзный полип у проксимального края дефекта, сторожевой бугорок у его дистального края, а также длительность анамнеза заболевания более 2 месяцев свидетельствует, что анальная трещина является хронической [1-6]. Анальная трещина возникает у лиц наиболее трудоспособного возраста, что подчеркивает социальную значимость проблемы [7,8]. Среди всех колопроктологических заболеваний анальная трещина встречается в 10-15% случаев, а заболеваемость находится в пределах 20-23 на 1000 населения [8,9].

Одним из оперативных методов лечения, наиболее часто используемым колопроктологами, является боковая подкожная сфинктеротомия (БПС), которая была предложена Notaras M.J. еще в 1969 году [10,11]. Однако метод БПС сопровождается достаточно высокой частотой развития послеоперационной недостаточности анального сфинктера (НАС), достигающей, по данным ряда авторов, 45% [12-16].

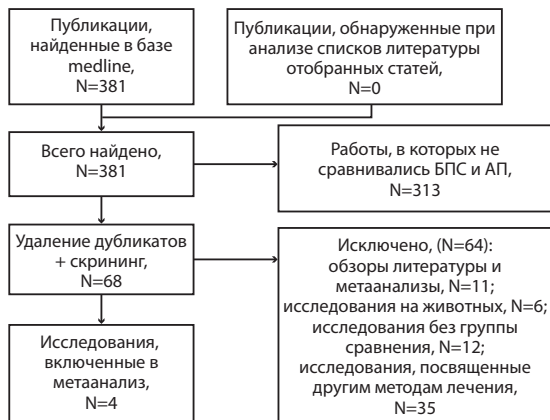
С целью улучшения эффективности лечения и

минимизации риска развития послеоперационных осложнений были предложены различные методы пластики дефекта анодермы кожным лоскутом [17-24]. Так, Chambers W. с соавторами в 2010 г. в своем исследовании показал, что V-Y пластика может быть успешно использована в качестве «метода выбора» в лечении ХАТ [18]. Главным преимуществом V-Y пластики является то, что данный метод позволяет избежать травматизации внутреннего анального сфинктера, что снижает риск развития анального недержания. Однако методы лечения ХАТ с применением анопластики сопровождаются достаточно высокой частотой рецидивов, достигающей 22% при сроках наблюдения за пациентами до 24 месяцев [6,20,25,26].

Вероятнее всего, причиной развития рецидивов заболевания в вышеуказанных исследованиях является недифференцированный подход к выбору пациентов и отсутствие воздействия на тонус внутреннего сфинктера при его подтвержденном спазме.

Предметом данного систематического обзора и метаанализа является суммирование и статистическая обработка данных всех доступных клинических исследований, посвященных сравнению эффективности и безопасности применения анопластики и боковой подкожной сфинктеротомии в лечении хронической анальной трещины.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ



**Рисунок 1.** Диаграмма поиска статей  
**Figure 1.** Flow diagram for database search

Систематический обзор и метаанализ выполнены в соответствии с международными рекомендациями the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses checklist (PRISMA) [27]. Поиск публикаций осуществлялся в электронных базах медицинской литературы Medline и завершился в феврале 2020 г. В поисковом запросе использовались

следующие ключевые слова: «anal fissure», «fissure in ano», «advancement flap», «V-Y advancement flap», «anoplasty», «sphincterotomy» и «lateral internal sphincterotomy». Поиск публикаций не был ограничен по дате издания статей, языковые ограничения также не применялись.

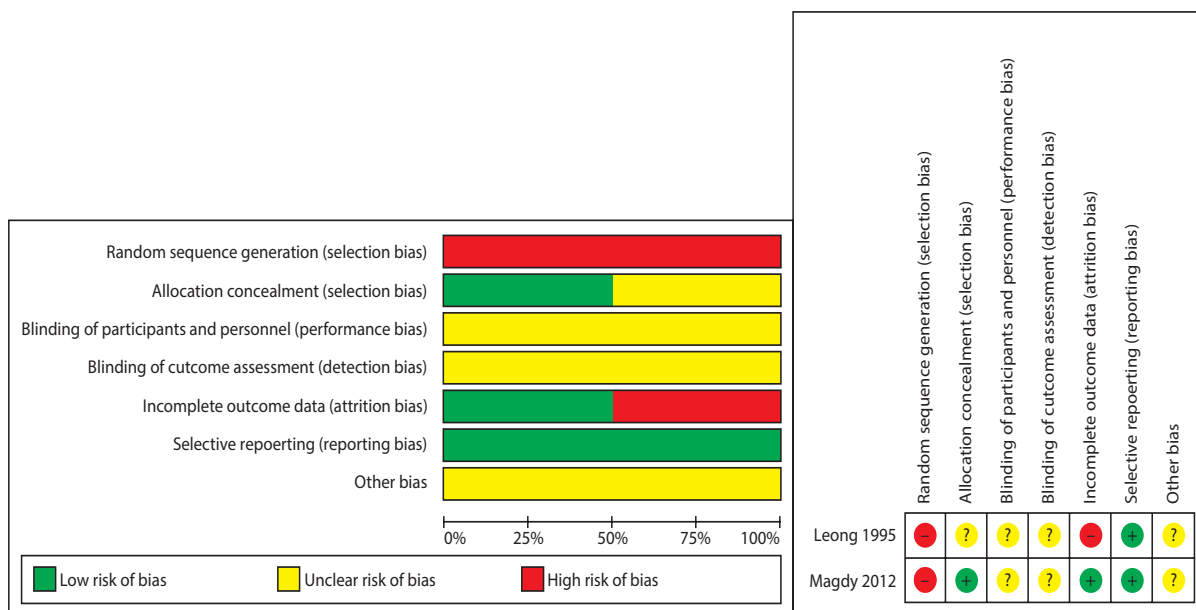
Публикации, включенные в метаанализ, отбирались по следующим критериям:

- полнотекстовые статьи (рандомизированные и нерандомизированные исследования);
- исследования, посвященные сравнению боковой подкожной сфинктеротомии и анопластики в лечении хронической анальной трещины.

Интересующие показатели:

1. Частота эпителизации трещин.
2. Частота послеоперационных осложнений.
3. Частота развития анальной инконтиненции в послеоперационном периоде.
4. Частота развития рецидивов заболевания.

Общее значение дихотомических показателей представлялось в виде отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Статистическая гетерогенность среди исследований оценивалась с помощью  $\chi^2$ -теста. Статистически значимой гетерогенностью считали при значениях  $p < 0,1$  и  $I^2 > 50\%$ . Смещения в исследованиях оценивали графически с помощью воронкообразного графика. Статистический анализ данных при сравнении вышеуказанных методик проводился с помощью программы Review Manager 5.3.



**Рисунок 2.** Оценка риска смещения в исследованиях, сравнивающих БПС и анопластику в лечении хронической анальной трещины, в соответствии с Cochrane risk of bias check list  
**Figure 2.** A risk of bias assessment in studies comparing outcomes after LIS and anal advancement flap in patients with chronic anal fissure, according to Cochrane risk of bias checklist.

**Таблица 1.** Характеристика исследований, сравнивающих использование анопластики и боковой подкожной сфинктеротомии в лечении хронической анальной трещины

**Table 1.** Characteristics of the studies comparing outcomes after anal advancement flap and lateral internal sphincterotomy in patients with chronic anal fissure

Автор	Год	Страна	Характеристика исследования	Срок наблюдения (мес.)	Метод	N пациентов	Заживление послеоперационных ран, N	Осложнения, N	Послеоперационная НАС***, N	Шкала качества по NOS****
Magdy et al.	2012	Египет	РКИ слепое	12	АП*	50	24	6	0	-
					БПС**	50	42	1	7	
Leong et al.	1995	Сингапур	РКИ	1,5	АП	20	17	0	0	-
				1,5	БПС	20	20	1	0	
Hancke et al.	2010	Германия	ретроспективное	88,4	АП	17	17	0	1	5
				78,5	БПС	21	21	0	10	
Patel et al.	2011	Великобритания	ретроспективное	8	АП	50	48	4	0	3
				9,5	БПС	50	44	4	0	

\* АП – анопластика.

\*\* БПС – боковая подкожная сфинктеротомия.

\*\*\* НАС – недостаточность анального сфинктера.

\*\*\*\* NOS – шкала Newcastle-Ottawa.

Качество рандомизированных исследований оценивалось в соответствии с Cochrane risk of bias check list [28].

Качество нерандомизированных исследований оценивалось с помощью шкалы Newcastle-Ottawa (NOS) [29].

Максимальное значение суммы звезд для каждого исследования – 9. При уровне 8-9 звезд исследование имеет низкий риск систематических ошибок.

### Результаты поиска

В поисковой системе PubMed в базе Medline при составлении запроса, содержащего вышеуказанные ключевые слова, была найдена 381 публикация.

При последующем скрининге литературы было отобрано 68 статей. В дальнейшем были исключены: обзоры литературы и метаанализы – 11 статей; исследования, проводимые на животных – 6 публикаций; исследования без группы сравнения – 12 публикаций; исследования, посвященные другим методам лечения анальной трещины – 35 статей.

Таким образом, в анализ включено 4 публикации, соответствующие критериям включения, из которых 2 исследования – проспективные рандомизированные и 2 – ретроспективные (Рис.1) [3-6]. Проанализировано 137 пациентов после выполнения анопластики и 141 пациент после боковой подкожной сфинктеротомии.

В исследованиях, оцениваемых в соответствии с Cochrane risk of bias check list, низкий риск отклонения результатов определяется лишь по критерию отчетности в исследованиях. В свою очередь, критерии метода рандомизации, ослепления исполнителей и исследователей, распределения пациентов по группам и полноты описания результатов лечения имеют

высокий риск отклонения, что ставит под сомнение качество включенных в метаанализ исследований (Рис.2).

Характеристика и качество исследований, оцененных по шкале NOS, приведены в таблице 1.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Метаанализ частоты эпителизации трещин

При анализе частоты заживления дефектов, продемонстрированной в 4 исследованиях, выявлено, что после выполнения АП частота эпителизации составляет 77,4% и 90,1% – после выполнения БПС. При этом шанс эпителизации послеоперационной раны у больных, перенесших АП на 63% ниже, чем после выполнения боковой подкожной сфинктеротомии (ОШ=0,37; ДИ=0,19;0,74;  $p<0,005$ ).

При оценке однородности групп в публикациях выявлено, что имеются значимые смещения  $I^2=79\%$ ,  $p=0,008$  (Рис.3А).

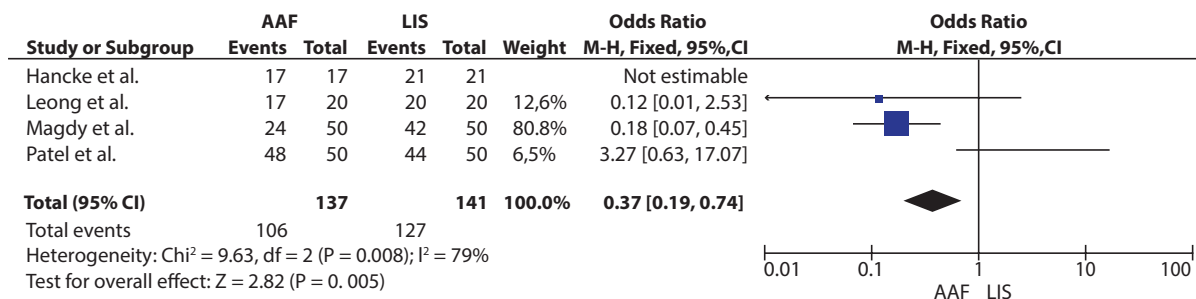
### Метаанализ развития послеоперационных осложнений

В 4 представленных исследованиях статистически значимых различий в частоте послеоперационных осложнений после лечения хронической анальной трещины с применением анопластики и боковой подкожной сфинктеротомии выявлено не было (ОШ=1,43; ДИ=0,54;3,78;  $p=0,47$ ).

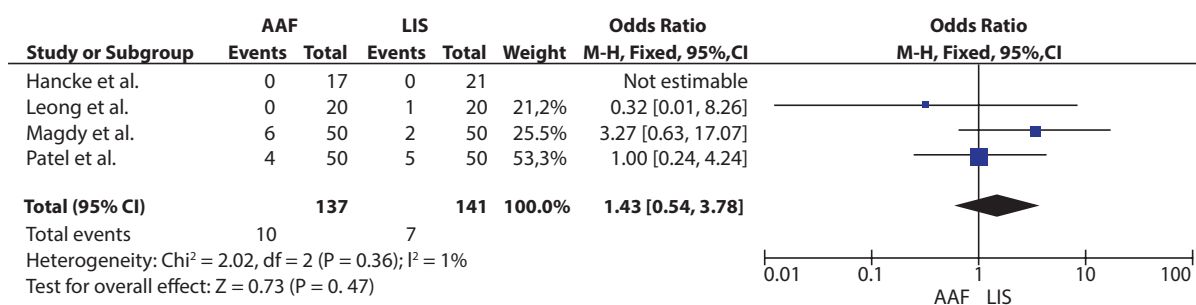
Исследования являются однородными  $I^2=1\%$ ,  $p=0,36$  (Рис.3Б).

### Метаанализ развития послеоперационной недостаточности анального сфинктера

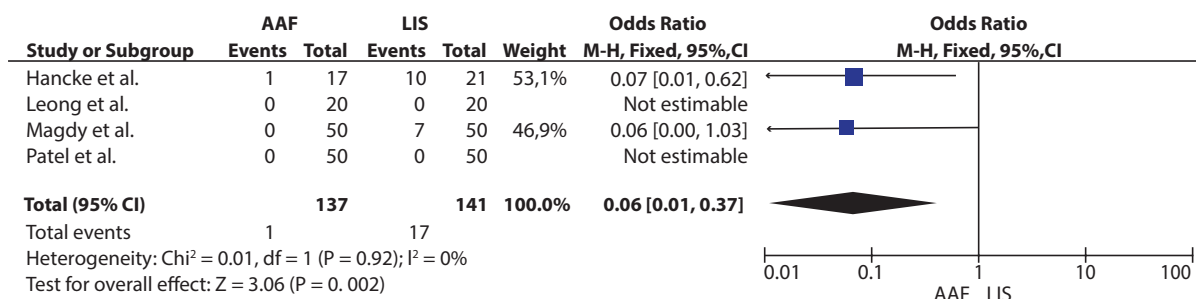
При анализе данных о частоте развития послеопе-



А. Частота эпителизации трещин при лечении ХАТ с использованием анопластики (AAF) и БПС (LIS)  
 А. Healing rates for CAF after anal advancement flap (AAF) and lateral internal sphincterotomy (LIS)



Б. Частота послеоперационных осложнений при лечении ХАТ с использованием анопластики (AAF) и БПС (LIS)  
 Б. Complication rates for CAF after anal advancement flap (AAF) and lateral internal sphincterotomy (LIS)



В. Частота развития послеоперационной НАС при лечении ХАТ с использованием анопластики (AAF) и БПС (LIS)  
 В. Postoperative ASI rates for anal fissure after anal advancement flap (AAF) and lateral internal sphincterotomy (LIS)

**Рисунок 3.** Сравнение анопластики и боковой подкожной сфинктеротомии в лечении хронической анальной трещины  
**Figure 3.** Anal advancement flap versus lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure

рационной НАС, представленных в 4 исследованиях, установлено, что частота НАС после АП составляет 0,7%, а после выполнения БПС - 12%. При этом шанс развития недостаточности анального сфинктера на 94% выше после выполнения боковой подкожной сфинктеротомии, чем после анопластики (ОШ=0,06; ДИ=0,01;0,37; р=0,002). Исследования являются однородными I<sup>2</sup>=0%, р=0,92 (Рис. 3В).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном метаанализе проведена оценка эффективности и безопасности классического хирургического метода лечения хронической анальной трещины - боковой подкожной сфинктеротомии и альтернативной методики - анопластики. По данным ряда авторов, частота эпителизации трещин с применением метода анопластики составляет



от 86 до 100% [3,4,18-20,30], а после боковой подкожной сфинктеротомии - 84-100% [3-6,34,35]. Однако при сравнении частоты эпителизации дефекта в исследованиях, включенных в метаанализ, выявлено, что после выполнения анопластики шанс заживления послеоперационных ран на 63% ниже, чем после боковой подкожной сфинктеротомии.

Осложнения после применения вышеуказанных методик были представлены ишемией и ретракцией лоскута, раневой инфекцией и кровотечениями. Мы не выявили статистически значимых различий в частоте послеоперационных осложнений после использования сравниваемых методов лечения анальной трещины. Ряд авторов, сравнивающих боковую подкожную сфинктеротомию с другими хирургическими методами лечения ХАТ, такими, как инъекция ботулотоксина во внутренний анальный сфинктер, баллонная дилатация, пришли к единому мнению о том, что все вышеуказанные оперативные методики сопоставимы по частоте развития послеоперационных осложнений [8,31-33].

Выполнена оценка риска развития анальной инконтиненции после выполнения АП и БПС. При сроках наблюдения за пациентами от 1,5 до 88,4 месяцев вероятность развития послеоперационной недостаточности анального жома на 94% выше после лечения хронической анальной трещины с применением боковой подкожной сфинктеротомии, чем после анопластики. Так, при изучении риска развития послеоперационной НАС Ebinger S.M. с соавт. в 2017 г. в своем сетевом метаанализе, сравнивающим различные оперативные методы лечения ХАТ, показали, что частота анальной инконтиненции после БПС составила 9,4%, после инъекции ботулотоксина – 4,1%, баллонной дилатации – 18,2%, а после выполнения анопластики - 4,9% при сроках наблюдения за пациентами от 2 недель до 5 лет [33].

Из всех исследований, включенных в метаанализ, данные о риске развития рецидивов в обеих группах были представлены только Magdy A. и соавторами, где после анопластики частота рецидивов составила 22%, а после БПС - 4% при сроке наблюдения за пациентами 12 месяцев [6]. По данным литературы, риск развития рецидивов заболевания после боковой подкожной сфинктеротомии при сроках наблюдения за пациентами до 20 месяцев достигает 20% [6,34,35], а после проведения анопластики при сроках наблюдения за пациентами до 24 месяцев – 22% [6,20,25,26]. В свою очередь, Patti R. и соавторы в 2012 году показали, что иссечение трещины в сочетании с анопластикой является безопасным и эффективным методом оперативного лечения. Послеоперационные раны эпителизовались у всех пациентов [26].

При сравнении изучаемых методов лечения было установлено, что применение анопластики снижа-

ет риск развития послеоперационной НАС, но при этом уступает боковой подкожной сфинктеротомии в частоте эпителизации [3-6]. Однако вышеизложенные результаты следует трактовать с осторожностью, поскольку при оценке качества исследований, включенных в метаанализ, имеется высокий риск отклонения их результатов вследствие недостаточного объема выборки и неоднородности групп, а также различных сроков наблюдения за пациентами.

Стоит отметить, что в исследовании Magdy A. и соавторов фигурировала группа пациентов, в которой применялась VY-пластика в сочетании с задней дозированной сфинктеротомией, где частота заживления дефектов составила 94%, а риск развития НАС и рецидивов - по 2% при сроках наблюдения за пациентами в течение 12 месяцев [6]. Однако среди различных методик сфинктеротомий для ликвидации спазма внутреннего сфинктера наиболее оптимальной является боковая подкожная сфинктеротомия [36].

В свою очередь, Patti R. и соавторы в 2010 году провели пилотное исследование, в котором пациентам с ХАТ выполняли иссечение анальной трещины в комбинации с анопластикой и медикаментозной релаксацией внутреннего сфинктера ботулиническим токсином. У всех пациентов послеоперационная рана зажила к 30 дню после оперативного вмешательства, а частота анальной инконтиненции составила 10% в срок наблюдения за пациентами до 12 месяцев [19]. Учитывая тот факт, что значительная роль в этиологии и патогенезе анальной трещины принадлежит спазму внутреннего сфинктера [8,37], можно с уверенностью говорить о том, что успех в вышеупомянутых исследованиях был достигнут, благодаря ликвидации гипертонуса анального жома. Таким образом, мы считаем, что VY-пластика в сочетании с иссечением трещины и медикаментозной релаксацией внутреннего сфинктера будет иметь преимущество перед другими оперативными методами лечения ХАТ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящий момент нет единой концепции в выборе хирургического метода лечения хронической анальной трещины, при этом большинство авторов сходятся в том, что он определенно должен быть комбинированным [3,4,6,8,19,24,37,38].

По данным метаанализа, боковая подкожная сфинктеротомия показывает более высокую частоту эпителизации дефекта. При этом результаты лечения пациентов после выполнения анопластики свидетельствуют о более низком риске развития послеоперационной недостаточности анального сфинктера. Однако низкие и неоднозначные показатели качества исследований, посвященных

сравнению АП и БПС, высокий риск смещения результатов в сравниваемых группах, а также гетерогенность публикаций заставляют с осторожностью подходить к трактовке полученных данных и диктуют необходимость проведения дальнейших исследований, посвященных сравнению иссечения трещины в сочетании с VY-пластикой и медикаментозной релаксацией внутреннего сфинктера ботулиническим токсином типа А с иссечением трещины в комбинации с боковой подкожной сфинктеротомией.

#### УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.

Сбор и обработка материала: Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.

Статистическая обработка: Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.

Написание текста: Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.

Редактирование: Арсланбекова К.И., Хрюкин Р.Ю., Жарков Е.Е.

#### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.

Collection and processing of the material: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.

Statistical processing: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.

Writing of the text: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.

Editing: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

##### ORCID

Хрюкин Р.Ю. <https://orcid.org/0000-0003-0556-1782>

Арсланбекова К.И. <https://orcid.org/0000-0001-7373-9103>

Жарков Е.Е. <https://orcid.org/0000-0003-3403-9731>

##### ORCID

Khryukin R.Yu. <https://orcid.org/0000-0003-0556-1782>

Arslanbekova K.I. <https://orcid.org/0000-0001-7373-9103>

9103

Zharkov E.E. <https://orcid.org/0000-0003-3403-9731>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Stewart DBS, Gaertner W, Glasgow S. Clinical practice guideline for the management of anal fissures. *Dis Colon Rectum*. 2017;60(1):7–14. DOI: 10.1097/DCR.0000000000000735
2. Воробьев Г.И. Основы колопроктологии. Ростов-на-Дону: Феникс, 2001 с.99-109.
3. Hancke E, Rikas E, Suchan K. Dermal flap coverage for chronic anal fissure: lower incidence of anal incontinence compared to lateral internal sphincterotomy after long-term follow-up. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(11):1563–1568. DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f0869f
4. Patel SD, Oxenham T, Praveen BV. Medium-term results of anal advancement flap compared with lateral sphincterotomy for the treatment of anal fissure. *Int J Colorectal Dis*. 2011;26(9):1211–1214. DOI: 10.1007/s00384-011-1234-4
5. Leong AF, Seow-Choen F. Lateral sphincterotomy compared with anal advancement flap for chronic anal fissure. *Dis Colon Rectum*. 1995;38(1):69–71. DOI: 10.1007/BF02053862
6. Magdy A, El Nakeeb A, Fouda el Y. Comparative study of conventional lateral internal sphincterotomy, V-Y anoplasty, and tailored lateral internal sphincterotomy with V-Y anoplasty in the treatment of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg*. 2012;16(10):1955–1962. DOI: 10.1007/s11605-012-1984-5
7. Wienert V, Raulf F, Mlitz H. Anal fissure: Symptoms, diagnosis and therapies. *Springer International Publishing*. 2017;p.63. DOI: 10.1055/s-0035-1570390
8. Хрюкин Р.Ю., Костарев И.В., Арсланбекова К.И. и соавт. Ботулинический токсин типа А и боковая подкожная сфинктеротомия в лечении хронической анальной трещины со спазмом сфинктера. Что выбрать? (систематический обзор литературы и метаанализ). *Колопроктология*. 2020; т.19, №2(72), с.113-128. DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-2-113-128
9. Нехрикова С.В., Титов А.Ю., Кашников В.Н. Амбулаторное лечение пациентов с заболеваниями анального канала и периаанальной области. *Доказательная гастроэнтерология*. 2019; №8(3), с.27-37.

DOI: 10.17116/dokgastro2019803127

10. Notaras MJ. Lateral subcutaneous sphincterotomy for anal fissure - a new technique. *Proc R Soc Med*. 1969;62(7):713.

11. Notaras MJ. The treatment of anal fissure by lateral subcutaneous sphincterotomy - a technique and results. *Br J Surg*. 1971;58:96–100. DOI: 10.1002/bjs.1800580204

12. Nelson R. Non surgical therapy for anal fissure. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(4):CD003431. DOI: 10.1002/14651858.CD003431

13. Davies I, Dafydd L, Davies L. Long term outcomes after lateral anal sphincterotomy for anal fissure: a retrospective cohort study. *Surg Today*. 2014;44(6):1032–1039. DOI: 10.1007/s00595-013-0785-0

14. Khubchandani IT, Reed JF. Sequelae of internal sphincterotomy for chronic fissure in ano. *Br J Surg*. 1989;76(5):431–434. DOI: 10.1002/bjs.1800760504

15. Шельгин Ю.А., Жарков Е.Е., Орлова Л.П. Риск анальной инконтиненции после иссечения анальной трещины в сочетании с боковой подкожной сфинктеротомией. *Колопроктология*. 2005; №1(11), с.10-16.

16. Шельгин Ю.А., Фролов С.А., Орлова Л.П. Анальное недержание у больных, перенесших иссечение анальной трещины в сочетании с боковой подкожной сфинктеротомией. *Колопроктология*. 2008; №3(25), с.18-24.

17. Pelta AE, Davis KG, Armstrong DN. Subcutaneous fissurectomy: a novel procedure for chronic fissure-in-ano. review of 109 cases. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(10):1662–67. DOI: 10.1007/s10350-007-9022-5

18. Chambers W, Sajal R, Dixon A. V-Y advancement flap as first-line treatment for all chronic anal fissures. *Int J Colorectal Dis*. 2010;25(5):645–648. DOI: 10.1007/s00384-010-0881-1

19. Patti R, Famà F, Tornambè A. Fissurectomy combined with anoplasty and injection of botulinum toxin in treatment of anterior chronic anal fissure with hypertonia of internal anal sphincter: a pilot study. *Tech Coloproctol*. 2010;14(1):31–36. DOI: 10.1007/s10151-009-0562-7

20. Singh M, Sharma A, Gardiner A. Early results of a rotational flap to treat chronic anal fissures. *Int J Colorectal Dis.* 2005;20(4):339–342. DOI: 10.1007/s00384-004-0663-8
21. Owen HA, Edwards DP, Khosraviani K, Phillips RK. The house advancement anoplasty for treatment of anal disorders. *J R Army Med Corps.* 2006;152(2):87–88. DOI: 10.1136/jramc-152-02-02
22. Kenefick NJ, Gee AS, Durdey P. Treatment of resistant anal fissure with advancement anoplasty. *Colorectal Dis.* 2002;4(6):463–466. DOI: 10.1046/j.1463-1318.2002.00373.x
23. Giordano P, Gravante G, Grondona P. Simple cutaneous advancement flap anoplasty for resistant chronic anal fissure: a prospective study. *World J Surg.* 2009; 33(5):1058-1063. DOI: 10.1007/s00268-009-9937-1
24. Patti R, Fama F, Tornambe A. Early results of fissurectomy and advancement flap for resistant chronic anal fissure without hypertonia of the internal anal sphincter. *Am Surg.* 2010; 76(2):206-210.
25. Mousavi SR, Sharifi M, Mehdikhah Z. A comparison between the results of fissurectomy and lateral internal sphincterotomy in the surgical management of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg.* 2009;13(7):1279–1282. DOI: 10.1007/s11605-009-0908-5
26. Patti R, Guercio G, Territo V, Aiello P, Angelo GL, Di Vita G. Advancement flap in the management of chronic anal fissure: a prospective study. *Updates Surg.* 2012;64(2):101–106. DOI: 10.1007/s13304-012-0147-2
27. Liberati A, Altman D, Tetzlaff J. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ (Clinical research ed.).* 2009;(339), p. b2700. DOI: 10.1136/bmj.b2700
28. Higgins JP, Altman DP, Gøtzsche PC. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *Br Med J.* 2011;343:889–893. DOI: 10.1136/bmj.d5928
29. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J., et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. 2014 Jan.
30. Abramowitz L, Bouchard D, Souffran M. Sphincter-sparing anal-fissure surgery: a 1-year prospective, observational, multicentre study of fissurectomy with anoplasty. *Colorectal Disease.* 2013;15: 359-367. DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03176.x
31. Nelson RL. Operative procedures for fissure in ano. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD002199. DOI:10.1002/14651858.CD002199
32. Garg P, Garg M, Menon GR. Long-term continence disturbance after lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis.* 2013;15 (3):104-117. DOI: 10.1111/codi.12108
33. Ebinger SM, Hardt J, Warschkow R. Operative and medical treatment of chronic anal fissures-a review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol.* 2017;52 (6):663-676. DOI: 10.1007/s00535-017-1335-0
34. Nasr M, Ezzat H, Elsebae M. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure: a randomized controlled trial. *World J Surg.* 2010;34 (11):2730–2734. DOI: 10.1007/s00268-010-0736-5
35. Valizadeh N, Jalaly NY, Hassanzadeh M. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy for the treatment of chronic anal fissure: randomized prospective controlled trial. *Langenbecks Arch Surg.* 2012;397 (7):1093–1098. DOI: 10.1007/s00423-012-0948-2
36. Благодарный Л.А., Полетов Н.Н., Жарков Е.Е. Хирургические методы релаксации внутреннего сфинктера у больных анальной трещиной. *Колопроктология.* 2007; №4(22), с.43-47.
37. Ткалич О.В., Пономаренко А.А., Фоменко О.Ю. Непосредственные результаты комплексного лечения хронической анальной трещины с применением ботулотоксина тип А (ISRCTN97413456). *Колопроктология.* 2020; №19(1), с.80-99. DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-1-80-99
38. Theodoropoulos GE, Spiropoulos V, Bramis K. Dermal flap advancement combined with conservative sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure. *Am Surg.* 2015;81(2):133–142.

## REFERENCES

1. Stewart DBSr, Gaertner W, Glasgow S. Clinical practice guideline for the management of anal fissures. *Dis Colon Rectum.* 2017;60 (1):7–14. DOI: 10.1097/DCR.0000000000000735
2. Vorob'yev G.I. Osnovy koloproktologii. Rostov-na-Donu: Feniks, 2001; pp. 99-109. (in Russ.).
3. Hancke E, Rikas E, Suchan K. Dermal flap coverage for chronic anal fissure: lower incidence of anal incontinence compared to lateral internal sphincterotomy after long-term follow-up. *Dis Colon Rectum.* 2010;53(11):1563–1568. DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f0869f
4. Patel SD, Oxenham T, Praveen BV. Medium-term results of anal advancement flap compared with lateral sphincterotomy for the treatment of anal fissure. *Int J Colorectal Dis.* 2011;26(9):1211–1214. DOI: 10.1007/s00384-011-1234-4
5. Leong AF, Seow-Choen F. Lateral sphincterotomy compared with anal advancement flap for chronic anal fissure. *Dis Colon Rectum.* 1995;38(1):69–71. DOI: 10.1007/BF02053862
6. Magdy A, El Nakeeb A, Fouda el Y. Comparative study of conventional lateral internal sphincterotomy, V-Y anoplasty, and tailored lateral internal sphincterotomy with V-Y anoplasty in the treatment of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg.* 2012;16(10):1955–1962. DOI: 10.1007/s11605-012-1984-5
7. Wienert V, Raulf F, Mlitz H. Anal fissure: Symptoms, diagnosis and therapies. *Springer International Publishing.* 2017; p.63. DOI: 10.1055/s-0035-1570390
8. Khryukin R.Yu., Kostarev I.V., Arslanbekova K.I. et al. Botulinum toxin type a and lateral subcutaneous sphincterotomy for chronic anal fissure with the sphincter spasm. What to choose? (systematic literature review and meta-analysis). *Koloproktologia.* 2020; v. 19, no. 2(72), pp. 113-128 (in Russ.). DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-2-113-128
9. Nekhrnikova S.V., Titov A.Yu., Kashnikov V.N. Outpatient treatment of patients with diseases of the anal canal and perianal region. *Dokazatel'naya gastroenterologiya.* 2019; v.8, no.3., pp.27-37. (in Russ.). DOI: 10.17116/dokgastro2019803127
10. Notaras MJ. Lateral subcutaneous sphincterotomy for anal fissure - a new technique. *Proc R Soc Med.* 1969;62(7):713.
11. Notaras MJ. The treatment of anal fissure by lateral subcutaneous sphincterotomy - a technique and results. *Br J Surg.* 1971;58:96–100. DOI: 10.1002/bjs.1800580204
12. Nelson R. Non surgical therapy for anal fissure. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006(4):CD003431. DOI: 10.1002/14651858.CD003431
13. Davies I, Dafydd L, Davies L. Long term outcomes after lateral anal sphincterotomy for anal fissure: a retrospective cohort study. *Surg Today.* 2014;44 (6):1032–1039. DOI: 10.1007/s00595-013-0785-0
14. Khubchandani IT, Reed JF. Sequelae of internal sphincterotomy for chronic fissure in ano. *Br J Surg.* 1989;76 (5):431–434. DOI: 10.1002/bjs.1800760504
15. Shelygin Yu.A., Zharkov E.E., Orlova L.P. Risk of anal incontinence after anal fissure excision in combination with lateral subcutaneous sphincterotomy. *Koloproktologia.* 2005; no.1(11), pp.10-16. (in Russ.).
16. Shelygin Yu.A., Frolov S.A., Orlova L.P. Anal incontinence in patients who underwent excision of the anal fissure in combination with lateral subcutaneous sphincterotomy. *Koloproktologia.* 2008; no. 3(25), pp. 18-24. (in Russ.).

17. Pelta AE, Davis KG, Armstrong DN. Subcutaneous fissurectomy: a novel procedure for chronic fissure-in-ano. review of 109 cases. *Dis Colon Rectum*. 2007;50 (10): 1662–67. DOI: 10.1007/s10350-007-9022-5
18. Chambers W, Sajal R, Dixon A. V-Y advancement flap as first-line treatment for all chronic anal fissures. *Int J Colorectal Dis*. 2010;25(5):645–648. DOI: 10.1007/s00384-010-0881-1
19. Patti R, Famà F, Tornambè A. Fissurectomy combined with anoplasty and injection of botulinum toxin in treatment of anterior chronic anal fissure with hypertonia of internal anal sphincter: a pilot study. *Tech Coloproctol*. 2010;14(1):31–36. DOI: 10.1007/s10151-009-0562-7
20. Singh M, Sharma A, Gardiner A. Early results of a rotational flap to treat chronic anal fissures. *Int J Colorectal Dis*. 2005;20(4):339–342. DOI: 10.1007/s00384-004-0663-8
21. Owen HA, Edwards DP, Khosraviani K, Phillips RK. The house advancement anoplasty for treatment of anal disorders. *J R Army Med Corps*. 2006;152(2):87–88. DOI: 10.1136/jramc-152-02-02
22. Kenefick NJ, Gee AS, Durdey P. Treatment of resistant anal fissure with advancement anoplasty. *Colorectal Dis*. 2002;4(6):463–466. DOI: 10.1046/j.1463-1318.2002.00373.x
23. Giordano P, Gravante G, Grondona P. Simple cutaneous advancement flap anoplasty for resistant chronic anal fissure: a prospective study. *World J Surg*. 2009; 33(5):1058-1063. DOI: 10.1007/s00268-009-9937-1
24. Patti R, Fama F, Tornambe A. Early results of fissurectomy and advancement flap for resistant chronic anal fissure without hypertonia of the internal anal sphincter. *Am Surg*. 2010; 76(2):206-210.
25. Mousavi SR, Sharifi M, Mehdikhah Z. A comparison between the results of fissurectomy and lateral internal sphincterotomy in the surgical management of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg*. 2009;13(7):1279–1282. DOI: 10.1007/s11605-009-0908-5
26. Patti R, Guercio G, Territo V, Aiello P, Angelo GL, Di Vita G. Advancement flap in the management of chronic anal fissure: a prospective study. *Updates Surg*. 2012;64(2):101–106. DOI: 10.1007/s13304-012-0147-2
27. Liberati A, Altman D, Tetzlaff J. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ* (*Clinical research ed.*). 2009;(339), p. b2700. DOI: 10.1136/bmj.b2700.
28. Higgins JP, Altman DP, Gøtzsche PC. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *Br Med J*. 2011;343:889–893. DOI: 10.1136/bmj.d5928.
29. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J., et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. 2014 Jan.
30. Abramowitz L, Bouchard D, Souffran M. Sphincter-sparing anal-fissure surgery: a 1-year prospective, observational, multicentre study of fissurectomy with anoplasty. *Colorectal Disease*. 2013;15: 359-367. DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03176.x
31. Nelson RL. Operative procedures for fissure in ano. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(1):CD002199. DOI:10.1002/14651858.CD002199
32. Garg P, Garg M, Menon GR. Long-term continence disturbance after lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis*. 2013;15 (3):104-117. DOI: 10.1111/codi.12108
33. Ebinger SM, Hardt J, Warschkow R. Operative and medical treatment of chronic anal fissures—a review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol*. 2017;52 (6):663-676. DOI: 10.1007/s00535-017-1335-0
34. Nasr M, Ezzat H, Elsebae M. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure: a randomized controlled trial. *World J Surg*. 2010;34 (11):2730–2734. DOI: 10.1007/s00268-010-0736-5
35. Valizadeh N, Jalaly NY, Hassanzadeh M. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy for the treatment of chronic anal fissure: randomized prospective controlled trial. *Langenbecks Arch Surg*. 2012;397 (7):1093–1098. DOI: 10.1007/s00423-012-0948-2.
36. Blagodarny L.A., Poletov N.N., Zharkov E.E. Surgical methods of relaxation of the internal sphincter in patients with anal fissure. *Koloproktologia*. 2007; no. 4(22), pp. 43-47. (in Russ.).
37. Tkalic O.V., Ponomarenko A.A., Fomenko O.Yu. Immediate results of complex treatment of chronic anal fissure using botulinum toxin type A (ISRCTN97413456). *Koloproktologia*. 2020; no. 19(1), pp.80-99. (in Russ.). DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-1-80-99
38. Theodoropoulos GE, Spiropoulos V, Bramis K. Dermal flap advancement combined with conservative sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure. *Am Surg*. 2015;81(2):133–142.



# ANOPLASTY AND LATERAL INTERNAL SPHINCTEROTOMY FOR CHRONIC ANAL FISSURE (systematic review and meta-analysis)

Karina I. Arslanbekova, Roman Yu. Khryukin, Evgeniy E. Zharkov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**INTRODUCTION:** lateral internal sphincterotomy (LIS) is considered the "gold standard" therapy for chronic anal fissure (CAF). Advantages of LIS over other surgical techniques include higher rate of healing and lower risk of fissure recurrence. However, this procedure is associated with a high risk of anal incontinence (AI) in the postoperative period. Anal advancement flap (AAF) is an alternative surgical procedure for CAF, which requires the use of local flaps. Anal advancement flap is associated with a significantly lower risk of anal incontinence.

**AIM:** to compare short-term and long-term outcomes of anal advancement flap and lateral internal sphincterotomy in patients with chronic anal fissure.

**METHODS:** a systematic review and meta-analysis of studies comparing outcomes of anal advancement flap and lateral internal sphincterotomy were conducted. The following parameters were evaluated: the rate of epithelialization, the rate of anal incontinence, and the rate of postoperative complications. The statistical analysis was carried out using the Review Manager software 5.3.

**RESULTS:** the systematic review included four studies that presented the results of 278 patients. Compared with LIS, the odds for healing after AAF were 63% lower (OR=0.37; CI=0.19; 0.74; P<0.005). No significant differences in the rate of postoperative complications (OR=1.43; CI=0.54; 3.78; p=0.47) were found. Compared with AAF, the odds for anal incontinence after LIS were 94% higher (OR=0.06; CI=0.01; 0.37; p=0.002).

**CONCLUSION:** both lateral internal sphincterotomy and anal advancement flap are effective for CAF. However, considering the ambiguity and poor quality of data from the studies comparing these procedures, a high risk of bias for comparison groups and heterogeneity of the studies, the results should be interpreted with caution. Therefore, the aforementioned limitations dictate the need for further research.

**[Key words: chronic anal fissure, lateral subcutaneous sphincterotomy, anoplasty, V-Y plasty, LIS, AAF]**

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E. Anoplasty and lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure (systematic review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 115-130. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-115-130>

Address for correspondence: Arslanbekova K.I., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; , +7 (499) 199-04-09, e-mail: [info@gnck.ru](mailto:info@gnck.ru)

Received – 03.08.2020

Revised – 08.09.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## INTRODUCTION

An anal fissure is an anodermlesion located within the "anatomical" anal canal. The course of this disease can be acute and chronic. In the presence of such signs as scar edges of the lesion, fibers of the internal sphincter in its bottom, a fibrous polyp at the proximal edge of the lesion, a sentinel tag at its distal edge, as well as a history of the disease of more than 2 months indicates that the anal fissure is chronic [1-6].

Anal fissure occurs in people of the employable age, which emphasizes the social significance of the problem [7,8]. Among all coloproctological diseases, anal fissure occurs in 10-15% of cases, and the incidence is in the range of 20-23 per 1,000 people [8,9].

One of the surgical techniques most often used by coloproctologists is lateral internal sphincterotomy

(LIS), which was proposed by Notaras M.J. back in 1969 [10,11]. However, the LIS technique is accompanied by a fairly high rate of postoperative anal incontinence (AI), which according to some authors reaches 45% [12-16].

In order to improve the effectiveness of treatment and minimize the risk of postoperative complications, various plastic methods for the anodermlesion with a skin flap were proposed [17-24]. Thus, Chambers, W. et al. in 2010 showed that V-Y plastic can be successfully used as a "method of choice" in the chronic anal fissure (CAF) treatment [18]. The main advantage of V-Y plasty is that this method avoids the internal anal sphincter injury, which reduces the risk of anal incontinence. However, methods of CAF treatment using anoplasty are accompanied by a fairly high recurrence rate, reaching 22% with a follow-up period of up to 24 months [6,20,25,26].



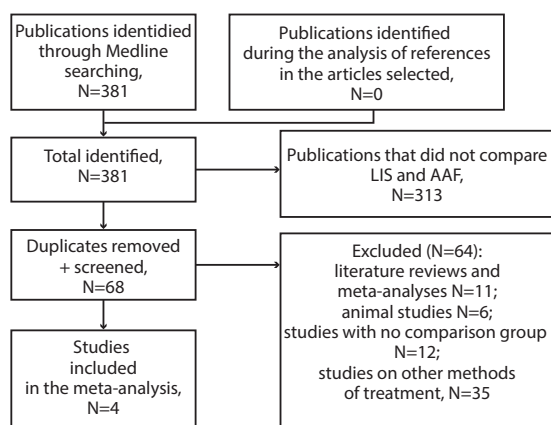


Figure 1. Flow diagram for database search

Most likely, the reason for the development of recurrence in the above studies is an undifferentiated approach to the selection of patients and the lack of impact on the tone of the internal sphincter with confirmed spasm.

The subject of this systematic review and meta-analysis is the summation and statistical processing of data from all available clinical studies comparing the effectiveness and safety of anoplasty and lateral internal sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure.

## MATERIALS AND METHODS

The systematic review and meta-analysis were performed in accordance with the international recommendations of the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses checklist (PRISMA) [27]. The search for publications was carried out in the electronic databases of medical literature Medline and was completed in February 2020. The search query used the following keywords: “anal fissure”, “fissure in ano”, “advancement flap”, “V-Y advancement flap”, “anoplasty”, “sphincterotomy” and “lateral internal sphincterotomy”. The search for publications was not restricted by the date of publication of articles, and language restrictions were also not applied.

Publications included in the meta-analysis were selected according to the following criteria:

- full-text articles (randomized and non-randomized studies);
- studies comparing lateral internal sphincterotomy and anoplasty in the treatment of chronic anal fissure.

Indicators of interest:

1. Fissure epithelization rate.
2. Postoperative complications rate.
3. Postoperative anal incontinence rate.
4. Recurrence rate.

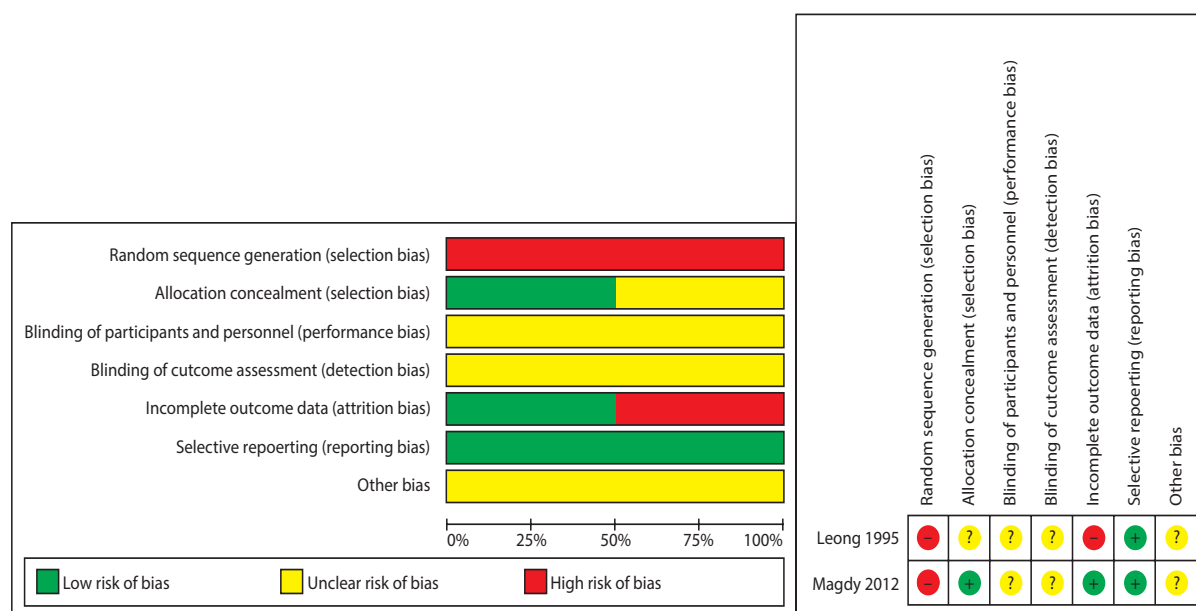


Figure 2. A risk of bias assessment in studies comparing outcomes after LIS and anal advancement flap in patients with chronic anal fissure, according to Cochrane risk of bias checklist.

The total value of the dichotomous indicators was represented as the odds ratio (OR) with a 95% coincidence interval (CI).

Statistical heterogeneity among the studies was assessed using the  $\chi^2$  test. Statistically significant heterogeneity was considered at  $p < 0.1$  and  $I^2 > 50\%$ . Biases in the studies were evaluated graphically using a funnel graph.

The statistical analysis of data when comparing the above methods was performed using the Review Manager 5.3 software.

The quality of randomized trials was evaluated in accordance with the Cochrane risk of bias checklist [28].

The quality of non-randomized studies was assessed using the Newcastle-Ottawa (NOS) scale [29].

The maximum value of the sum of stars for each study is 9. At the level of 8 - 9 stars, the study has a low risk of systematic errors.

### Search Results

381 publications were found in the PubMed search engine in the Medline database when compiling a query containing the above keywords.

During the subsequent literature screening, 68 articles were selected. In the future, the following were excluded: literature reviews and meta-analyses - 11 articles; animal studies - 6 publications; studies without a comparison group - 12 publications; studies on other methods of anal fissure treatment - 35 articles.

Thus, the analysis included 4 publications that meet the inclusion criteria, of which 2 studies are prospective randomized and 2 are retrospective (Fig.1) [3-6].

137 patients after anoplasty and 141 patients after lateral internal sphincterotomy were analyzed.

In studies evaluated according to the Cochrane risk of bias checklist, the low risk of bias of results is determined only by the study reporting criteria. In turn, the criteria of the randomization method, blinding performers and researchers, the distribution of patients into groups, and the completeness of the description of treatment results have a high risk of bias, which calls into question the quality of the studies included in the meta-analysis (Fig.2).

The characteristics and quality of studies evaluated on the NOS scale are shown in table 1.

## RESULTS

### Meta-analysis of fissure epithelization rate

When analyzing the lesion healing rate demonstrated in 4 studies, it was found that after performing AP, the epithelization healing rate is 77.4% and 90.1% after performing LIS.

At the same time, the chance of postoperative wound epithelization in patients who underwent AP is 63% lower than after performing lateral internal sphincterotomy (OR=0.37; CI=0.19;0.74;  $p < 0.005$ ).

When assessing the homogeneity of groups in publications, it was found that there are significant biases  $I^2 = 79\%$ ,  $p = 0.008$  (Fig. 3A).

### Meta-analysis of Postoperative Complications

In the 4 studies presented, there were no significant differences in the postoperative complications rate after treatment of chronic anal fissure with anoplasty and lateral internal sphincterotomy (OR=1.43; CI=0.54;3.78;  $p = 0.47$ ).

The studies are homogeneous  $I^2 = 1\%$ ,  $p = 0.36$  (Fig. 3B).

**Table 1.** Characteristics of the studies comparing outcomes after anal advancement flap and lateral internal sphincterotomy in patients with chronic anal fissure

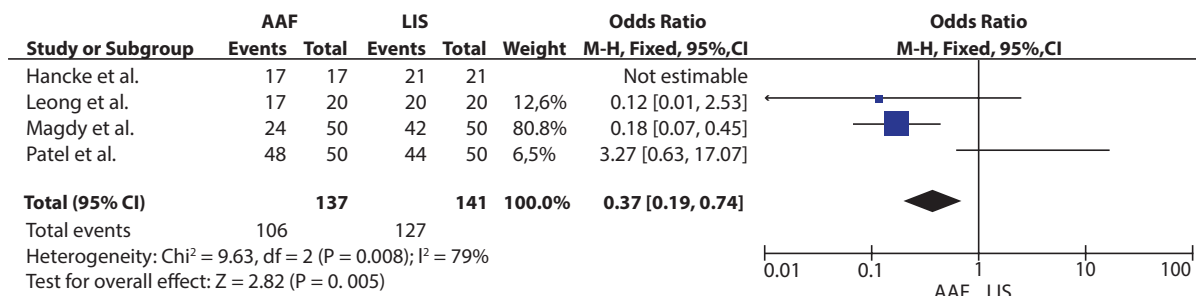
Author	Year	Country	Study-characteristics	Follow-up period (months)	Procedure	N of patients	Postoperative wound healing, N	Complications, N	Post-operative AI***, N	NOS**** for assessing the quality of studies
Magdy et al.	2012	Egypt	Blinded RCT	12	AP*	50	24	6	0	-
					LIS**	50	42	1	7	
Leong et al.	1995	Singapore	RCT	1,5	AP	20	17	0	0	-
				1,5	LIS	20	20	1	0	
Hancke et al.	2010	Germany	retrospective	88,4	AP	17	17	0	1	5
				78,5	LIS	21	21	0	10	
Patel et al.	2011	Great Britain	retrospective	8	AP	50	48	4	0	3
				9,5	LIS	50	44	4	0	

\* AP – anal advancement flap.

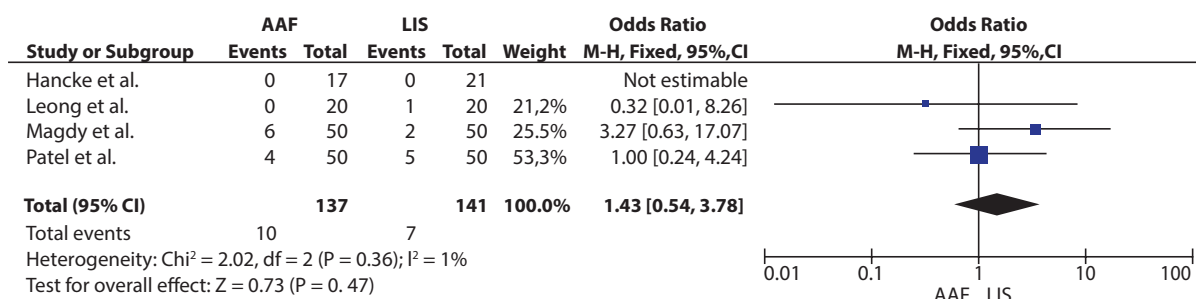
\*\* LIS – lateral internal sphincterotomy.

\*\*\* AI – anal incontinence.

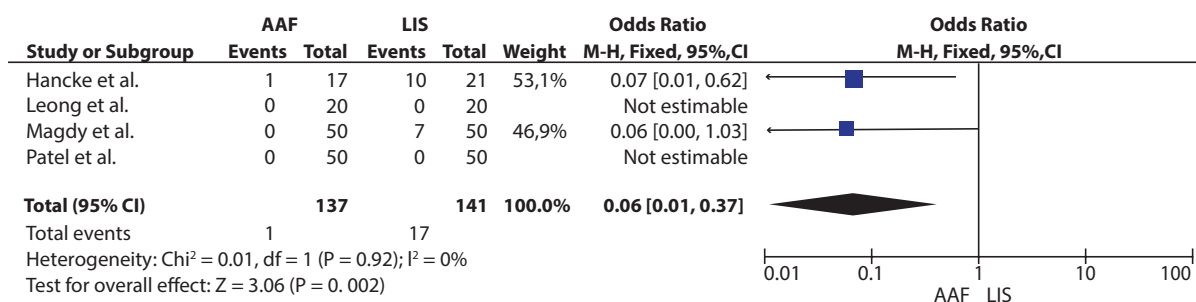
\*\*\*\* NOS – The Newcastle-Ottawa Scale.



A. Healing rates for CAF after anal advancement flap (AAF) and lateral internal sphincterotomy (LIS)



B. Complication rates for CAF after anal advancement flap (AAF) and lateral internal sphincterotomy (LIS)



B. Postoperative ASI rates for anal fissure after anal advancement flap (AAF) and lateral internal sphincterotomy (LIS)

Figure 3. Anal advancement flap versus lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure

### Meta-analysis of Development of Postoperative Anal Sphincter Incontinence

When analyzing data on the postoperative AI rate presented in the 4 studies, it was found that the AI rate after AP is 0.7% and after LIS is 12%.

At the same time, the chance of developing AI is 94% higher after lateral internal sphincterotomy than after anoplasty (OR=0.06; CI=0.01;0.37; p=0.002).

The studies are homogeneous I<sup>2</sup>=0%, p=0.92 (Fig. 3B).

## DISCUSSION

In the presented meta-analysis, the effectiveness and safety of the classical surgical method for treatment of chronic anal fissure - lateral internal sphincterotomy and an alternative technique of anooplasty were assessed.

According to a number of authors, the fissure epithelization rate using the anooplasty technique ranges from 86% to 100% [3,4,18-20,30], and after lateral internal sphincterotomy - 84% - 100% [3-6,34,35]. However, when comparing the lesion healing rate, in the studies included in the meta-analysis, it was found that after anooplasty, the chance of postoperative wounds healing is 63% lower than after lateral internal sphincterotomy.

Complications after using the above methods were represented by ischemia and flap retraction, wound infection, and bleeding. No significant differences in the postoperative complications rate after using the compared methods were found.

A number of authors, who compare lateral internal sphincterotomy with other surgeries for CAF, such as botulinum toxin injection into the internal anal sphincter and balloon dilation, have agreed that all the above-mentioned surgeries are comparable in the postoperative complications rate [8,31-33].

The risk of anal incontinence after AP and LIS was assessed.

With a follow-up period of 1.5 to 88.4 months, the postoperative anal incontinence rate is 94% higher after treatment of a chronic anal fissure using lateral internal sphincterotomy than after anooplasty.

Thus, when studying the risk of developing postoperative AI, Ebinger, S. M. et al. in 2017 in their network meta-analysis, comparing various surgical methods for CAF treatment, showed that the anal incontinence rate after LIS was 9.4%, after botulinum toxin injection - 4.1%, balloon dilation - 18.2%, and after anooplasty - 4.9%, with follow-up periods from 2 weeks to 5 years [33].

Of all the studies included in the meta-analysis, the data on the risk of recurrence in both groups were only provided by Magdy, A. and co-authors, where the recurrence rate after anooplasty was 22%, and after LIS - 4%, with a follow-up period of 12 months [6].

According to the literature, the risk of recurrence after lateral internal sphincterotomy with follow-up periods of up to 20 months reaches 20% [6,34,35], and after anooplasty with follow-up periods of up to 24 months - 22% [6,20,25,26]. In turn, Patti R. and co-authors in 2012 showed that fissure excision in combination with anooplasty is a safe and effective surgical technique, postoperative wounds were epithelized in all patients

[26].

When comparing the studied treatment methods, it was found that the use of anooplasty reduces the risk of postoperative AI, but at the same time it is inferior to lateral internal sphincterotomy in the epithelization rate [3-6]. However, the above results should be interpreted with caution, since when assessing the quality of studies included in the meta-analysis, there is a high risk of bias of their results due to insufficient sample size and heterogeneity of groups, as well as different follow-up periods for patients.

It is worth noting that the study by Magdy A. and co-authors included a group of patients who underwent VY-plastic surgery in combination with posterior dosed sphincterotomy, where the lesion healing rate was 94%, and the risk of AI and recurrence was 2% each, with a follow-up period of 12 months [6].

However, among the various methods of sphincterotomy to eliminate the internal sphincter spasm, the most optimal is lateral internal sphincterotomy [36].

In turn, Patti R. and co-authors in 2010 conducted a pilot study in which patients with CAF underwent excision of the anal fissure in combination with anooplasty and drug relaxation of the internal sphincter with botulinum toxin.

In all the patients, the postoperative wound healed by 30th day after surgery, and the anal incontinence rate was 10% during the follow-up period of up to 12 months [19].

Given the fact that an important role in the etiology and pathogenesis of anal fissure belongs to the internal sphincter spasm [8,37], it is safe to say that success in the above-mentioned studies was achieved due to the elimination of anal sphincter hypertonus.

Thus, we believe that VY-plastic surgery in combination with fissure excision and medical relaxation of the internal sphincter will have an advantage over other surgical techniques for CAF treatment.

## CONCLUSION

Currently, there is no unified concept in choosing a surgical method for the treatment of chronic anal fissure, and most authors agree that it should definitely be combined [3,4,6,8,19,24,37,38].

According to the meta-analysis, lateral internal sphincterotomy shows a higher lesion epithelization rate.

At the same time, the results of treatment of patients after anooplasty indicate a lower risk of developing postoperative anal incontinence.

However, the low and ambiguous quality indicators of studies comparing AP and LIS, the high risk of bias in the results in the compared groups, as well as the

heterogeneity of publications, make it necessary to approach the interpretation of the obtained data with caution and dictate the need for further research on comparing fissure excision in combination with VY-plasty and drug relaxation of the internal sphincter with botulinum toxin type A with fissure excision in combination with lateral internal sphincterotomy.

#### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.*

Collection and processing of the material:

*Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.*  
Statistical processing: *Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.*

Writing of the text: *Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.*

Editing: *Arslanbekova K.I., Khryukin R.Yu., Zharkov E.E.*

#### ORCID

Khryukin R.Yu. <https://orcid.org/0000-0003-0556-1782>

Arslanbekova K.I. <https://orcid.org/0000-0001-7373-9103>

Zharkov E.E. <https://orcid.org/0000-0003-3403-9731>

## REFERENCES

1. Stewart DBSr, Gaertner W, Glasgow S. Clinical practice guideline for the management of anal fissures. *Dis Colon Rectum*. 2017;60(1):7–14. DOI: 10.1097/DCR.0000000000000735
2. Vorob'yev G.I. Osnovy koloproktologii. Rostov-na-Donu: Feniks, 2001; pp. 99–109. (in Russ.).
3. Hancke E, Rikas E, Suchan K. Dermal flap coverage for chronic anal fissure: lower incidence of anal incontinence compared to lateral internal sphincterotomy after long-term follow-up. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(11):1563–1568. DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f0869f
4. Patel SD, Oxenham T, Praveen BV. Medium-term results of anal advancement flap compared with lateral sphincterotomy for the treatment of anal fissure. *Int J Colorectal Dis*. 2011;26(9):1211–1214. DOI: 10.1007/s00384-011-1234-4
5. Leong AF, Seow-Choen F. Lateral sphincterotomy compared with anal advancement flap for chronic anal fissure. *Dis Colon Rectum*. 1995;38(1):69–71. DOI: 10.1007/BF02053862
6. Magdy A, El Nakeeb A, Fouda el Y. Comparative study of conventional lateral internal sphincterotomy, V-Y anoplasty, and tailored lateral internal sphincterotomy with V-Y anoplasty in the treatment of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg*. 2012;16(10):1955–1962. DOI: 10.1007/s11605-012-1984-5
7. Wienert V, Raulf F, Mlitz H. Anal fissure: Symptoms, diagnosis and therapies. *Springer International Publishing*. 2017; p.63. DOI: 10.1055/s-0035-1570390
8. Khryukin R.Yu., Kostarev I.V., Arslanbekova K.I. et al. Botulinum toxin type a and lateral subcutaneous sphincterotomy for chronic anal fissure with the sphincter spasm. What to choose? (systematic literature review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v. 19, no. 2(72), pp. 113–128 (in Russ.). DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-2-113-128
9. Nekhrivkova S.V., Titov A.Yu., Kashnikov V.N. Outpatient treatment of patients with diseases of the anal canal and perianal region. *Dokazatel'naya gastroenterologiya*. 2019; v.8, no.3., pp.27–37. (in Russ.). DOI: 10.17116/dokgastro2019803127
10. Notaras MJ. Lateral subcutaneous sphincterotomy for anal fissure - a new technique. *Proc R Soc Med*. 1969;62(7):713.
11. Notaras MJ. The treatment of anal fissure by lateral subcutaneous sphincterotomy - a technique and results. *Br J Surg* 1971;58:96–100. DOI: 10.1002/bjs.1800580204
12. Nelson R. Non surgical therapy for anal fissure. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(4):CD003431. DOI: 10.1002/14651858.CD003431
13. Davies I, Dafydd L, Davies L. Long term outcomes after lateral anal sphincterotomy for anal fissure: a retrospective cohort study. *Surg Today*. 2014;44(6):1032–1039. DOI: 10.1007/s00595-013-0785-0
14. Khubchandani IT, Reed JF. Sequelae of internal sphincterotomy for chronic fissure in ano. *Br J Surg*. 1989;76(5):431–434. DOI: 10.1002/bjs.1800760504
15. Shelygin Yu.A., Zharkov E.E., Orlova L.P. Risk of anal incontinence after anal fissure excision in combination with lateral subcutaneous sphincterotomy. *Koloproktologia*. 2005; no.1(11), pp.10–16. (in Russ.).
16. Shelygin Yu.A., Frolov S.A., Orlova L.P. Anal incontinence in patients who underwent excision of the anal fissure in combination with lateral subcutaneous sphincterotomy. *Koloproktologia*. 2008; no. 3(25), pp. 18–24. (in Russ.).
17. Pelta AE, Davis KG, Armstrong DN. Subcutaneous fissurotomy: a novel procedure for chronic fissure-in-ano. review of 109 cases. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(10): 1662–67. DOI: 10.1007/s10350-007-9022-5
18. Chambers W, Sajal R, Dixon A. V-Y advancement flap as first-line treatment for all chronic anal fissures. *Int J Colorectal Dis*. 2010;25(5):645–648. DOI: 10.1007/s00384-010-0881-1
19. Patti R, Famà F, Tornambè A. Fissurectomy combined with anoplasty and injection of botulinum toxin in treatment of anterior chronic anal fissure with hypertonia of internal anal sphincter: a pilot study. *Tech Coloproctol*. 2010;14(1):31–36. DOI: 10.1007/s10151-009-0562-7
20. Singh M, Sharma A, Gardiner A. Early results of a rotational flap to treat chronic anal fissures. *Int J Colorectal Dis*. 2005;20(4):339–342. DOI: 10.1007/s00384-004-0663-8
21. Owen HA, Edwards DP, Khosraviani K, Phillips RK. The house advancement anoplasty for treatment of anal disorders. *J R Army Med Corps*. 2006;152(2):87–88. DOI: 10.1136/jramc-152-02-02
22. Kenefick NJ, Gee AS, Durdey P. Treatment of resistant anal fissure with advancement anoplasty. *Colorectal Dis*. 2002;4(6):463–466. DOI: 10.1046/j.1463-1318.2002.00373.x
23. Giordano P, Gravante G, Grondona P. Simple cutaneous advancement flap anoplasty for resistant chronic anal fissure: a prospective study. *World J Surg*. 2009; 33(5):1058–1063. DOI: 10.1007/s00268-009-9937-1
24. Patti R, Fama F, Tornambe A. Early results of fissurectomy and advancement flap for resistant chronic anal fissure without hypertonia of the internal anal sphincter. *Am Surg*. 2010; 76(2):206–210.
25. Mousavi SR, Sharifi M, Mehdikhah Z. A comparison between the results of fissurectomy and lateral internal sphincterotomy in the surgical management of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg*. 2009;13(7):1279–1282. DOI: 10.1007/s11605-009-0908-5
26. Patti R, Guercio G, Territo V, Aiello P, Angelo GL, Di Vita G. Advancement flap in the management of chronic anal fissure: a prospective study. *Updates Surg*. 2012;64(2):101–106. DOI: 10.1007/s13304-012-0147-2
27. Liberati A, Altman D, Tetzlaff J. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ*



- 
- (Clinical research ed.). 2009;(339), p. b2700. DOI: 10.1136/bmj.b2700.
28. Higgins JP, Altman DP, Gøtzsche PC. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *Br Med J*. 2011;343:889-893. DOI: 10.1136/bmj.d5928.
29. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J., et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. 2014 Jan.
30. Abramowitz L, Bouchard D, Souffran M. Sphincter-sparing anal-fissure surgery: a 1-year prospective, observational, multicentre study of fissurectomy with anoplasty. *Colorectal Disease*. 2013;15: 359-367. DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03176.x
31. Nelson RL. Operative procedures for fissure in ano. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(1):CD002199. DOI:10.1002/14651858.CD002199
32. Garg P, Garg M, Menon GR. Long-term continence disturbance after lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis*. 2013;15 (3):104-117. DOI: 10.1111/codi.12108
33. Ebinger SM, Hardt J, Warschkow R. Operative and medical treatment of chronic anal fissures-a review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol*. 2017;52 (6):663-676. DOI: 10.1007/s00535-017-1335-0
34. Nasr M, Ezzat H, Elsebae M. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure: a randomized controlled trial. *World J Surg*. 2010;34 (11):2730-2734. DOI: 10.1007/s00268-010-0736-5
35. Valizadeh N, Jalaly NY, Hassanzadeh M. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy for the treatment of chronic anal fissure: randomized prospective controlled trial. *Langenbecks Arch Surg*. 2012;397 (7):1093-1098. DOI: 10.1007/s00423-012-0948-2.
36. Blagodarny L.A., Poletov N.N., Zharkov E.E. Surgical methods of relaxation of the internal sphincter in patients with anal fissure. *Koloproktologia*. 2007; no. 4(22), pp. 43-47. (in Russ.).
37. Tklich O.V., Ponomarenko A.A., Fomenko O.Yu. Immediate results of complex treatment of chronic anal fissure using botulinum toxin type A (ISRCTN97413456). *Koloproktologia*. 2020; no. 19(1), pp.80-99. (in Russ.). DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-1-80-99
38. Theodoropoulos GE, Spiropoulos V, Bramis K. Dermal flap advancement combined with conservative sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure. *Am Surg*. 2015;81(2):133-142.

# ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОГНОЗ У ПАЦИЕНТОВ С КАНЦЕРОМАТОЗОМ БРЮШИНЫ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ (обзор литературы)

Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Тюляндин С.А.

Онкологическое отделение лекарственного лечения (химиотерапевтического)  
№2 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России  
(ул. Миклухо-Маклая, д.21, корп.3, Москва, 117198, Россия)

*Изолированное поражение метастазами брюшины при раке толстой кишки встречается у 1,8% пациентов. Данный тип опухолей характеризуется определенными фенотипическими и молекулярно-генетическими особенностями, что определяет особенности течения заболевания и, соответственно, выбор лечения методов больных. В настоящем обзоре литературы наряду с описанием основных положений патогенеза заболевания рассмотрены чувствительность и специфичность различных методов диагностики поражения брюшины при раке толстой кишки, выбора системной терапии, необходимости выполнения хирургического удаления метастазов и проведения интраперитонеальной гипертермической химиоперфузии.*

**[Ключевые слова: рак толстой кишки, метастазы по брюшине, перитонеальный карциноматоз, перитонеумэктомия, HIPEC, PIPEC, внутрибрюшинная химиотерапия]**

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

Для цитирования: Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Тюляндин С.А. Диагностика, лечение и прогноз у пациентов с канцероматозом брюшины при колоректальном раке (обзор литературы). *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 131-149. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-131-149>

## DIAGNOSTICS, TREATMENT AND PROGNOSIS IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER AND PERITONEAL CARCINOMATOSIS (review)

Mikhail Yu. Fedyanin, Alexey A. Tryakin, Mikhail D. Ter-Ovanesov, Sergey A. Tyulyandin

Oncological department of chemotherapy #2 in Federal State Budgetary  
Institution «N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of  
the Ministry of Health of the Russian Federation, (Miklukho-Maklaya str., 21-3,  
Moscow, 117198, Russia)

*Isolated colorectal peritoneal metastases occur in 1.8% of patients. This type of tumor is characterized by certain phenotypic and molecular genetic characteristics, which determines the choice of specific treatment options. In this literature review, along with a description of the main principles of the pathogenesis of the disease, the sensitivity and specificity of various diagnostic methods for colorectal peritoneal lesions, the choice of systemic therapy, the need for peritonectomy and intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion are considered.*

**[Key words: colorectal cancer, peritoneal metastases, peritoneal carcinomatosis, peritonectomy, HIPEC, PIPEC, intraperitoneal chemotherapy]**

**CONFLICTS OF INTERESTS: The authors declare no conflicts of interest.**

For citation: Fedyanin M.Yu., Tryakin A.A., Ter-Ovanesov M.D., Tyulyandin S.A. Diagnostics, Treatment and Prognosis in Patients with Colorectal Cancer and Peritoneal Carcinomatosis (review). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 131-149. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-131-149>

Адрес для переписки: Федянин М.Ю., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России, кафедра онкологии и гематологии

## ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак уверенно входит в тройку лидеров в структуре онкозаболеваемости. Прогресс в лекарственной терапии, широкое применение комбинированных подходов в лечении распространенных форм заболевания привели к значимому улучшению отдаленных результатов в последние два десятилетия. Метастатическое поражение брюшины при раке толстой кишки отличается от остальных вариантов метастазирования как по патогенезу, так и по диагностике и подходам к лечению. Данная статья является обзором современных представлений об эпидемиологии, патогенезе и лечении больных колоректальным раком с метастатическим поражением брюшины.

### Эпидемиология

Изучая частоту поражения брюшины как органа мишени для метастазов злокачественных опухолей, можем обратиться к канцер-регистру Швеции. Авторы работы, изучив данные аутопсий 179581 пациента, выявили поражение брюшины у мужчин - от 1% при раке легкого и предстательной железы, до 23% - при раке желудка. При раке толстой кишки поражение брюшины описано у 13%. Среди женщин: от 1% - при раке легкого, до 65% - при раке яичников; при раке толстой кишки – 16%. Если взять всех больных с метастазами по брюшине, то у мужчин рак толстой кишки находится на первом месте в качестве причины, и с возрастом доля его, как причина карциноматоза, увеличивалась. Среди женщин наблюдалась аналогичная тенденция - рак толстой кишки занимает второе место как причина перитонеального карциноматоза после рака яичников, однако к 1970-м годам доля карциноматоза брюшины, приходящегося на каждую нозологию, практически выравнивается [1]. С другой стороны, при выполнении хирургических вмешательств по поводу первичных опухолей толстой кишки метастазы по брюшине описываются у 5-10% больных [2-4]. Анализ индивидуальных данных пациентов, принимавших участие в рандомизированных проспективных исследованиях по лечению метастатического рака толстой кишки в базе ARCAD, показал, что перитонеальный карциноматоз встречается у 13% пациентов. При этом изолированное пора-

жение брюшины выявлено только у 1,8% больных [5]. Метастазы по брюшине при колоректальном раке чаще встречаются при муцинозном (48,2%) и перстневидноклеточном гистотипах (51,2%), нежели при обычной аденокарциноме (20,1%); при раке ободочной кишки (28,8%), в сравнении с опухолями прямой кишки (16,1%) [6]; при мутации в гене *BRAF* - 46% против 24% при диком фенотипе гена [7,8]. Franko с соавторами выявили, что для изолированного перитонеального поражения метастазами характерны не только мутация в гене *BRAF* (18% против 9%) и женский пол (46% против 37%), но и локализация первичной опухоли в проксимальных отделах толстой кишки (38% против 16%), метакхронный вариант метастазирования (67% против 34%) и низкий функциональный статус на момент диагностирования метастатического поражения (11% против 5%) в сравнении с метастазами в других органах [5].

### Патогенез

Рассматривая биологические свойства рака толстой кишки, тропного к распространению по брюшине, следует вспомнить о его молекулярных подтипах. Напомним, что выделено 5 подтипов рака толстой кишки (CMS1 - иммунный, CMS2 - канонический, CMS3 - метаболический, CMS4 - мезенхимальный и не классифицируемые опухоли), которые характеризуются определенными клиническими, молекулярными и прогностическими отличиями [9].

В исследовании Ubink с соавторами в когорте больных с изолированным перитонеальным карциноматозом рака толстой кишки, которым проводилась циторедуктивная операция с HIPEC, в 60% наблюдений выявлен CMS4 подтип [10]. При этом в общей популяции пациентов частота данного подтипа находится на уровне всего 20% [9]. Данный мезенхимальный вариант опухолей характеризуется хромосомной нестабильностью, активацией TGFβ/VEGF сигналинга (стимулирует дифференцировку перитонеальных фибробластов и мезотелиальных клеток в активные миофибробласты [11]), гиперэкспрессией NOTCH3, высоким содержанием фибробластов и низким содержанием лимфоцитов. Более того, большинство опухолей в исследовании (79%) характеризовались наличием высокого процента стромального компо-

нента, что также является негативным прогностическим фактором [10].

Другая группа авторов выявила, что опухоли толстой кишки с изолированным поражением метастазами брюшины не экспрессируют маркеры стволовых опухолевых клеток (CD44, CD133,  $\beta$ -катенин), что определяет снижение способности клеток к эпителиально-мезенхимальному переходу и метастазированию в органы. То есть, другими словами, изолированный перитонеальный карциноматоз - это по-своему агрессивно текущие местно-распространенные опухоли, что говорит об уникальном фенотипе данной подгруппы рака толстой кишки [12]. Низкий процент экспрессии генов эпителиально-мезенхимального перехода в первичной опухоли (*ZEB1*, *ZEB2*, *CDH1*, *VIM* и *SNAI1*) при перитонеальном карциноматозе отмечен и в другой работе (всего у 35%). Однако в самих метастазах по брюшине экспрессия генов мезенхимально-эпителиального перехода была выявлена уже в 95% наблюдений. Последнее говорит об изменениях экспрессионного профиля опухоли в процессе развития клеток в условиях метастатической ниши в брюшине [13].

Интересно, что только единственная микро-РНК - *has-miR-31-5p* была ассоциирована с перитонеальным карциноматозом. Как выяснилось, гиперэкспрессия данной микроРНК при раке толстой кишки ингибирует эпителиально-мезенхимальный переход посредством подавления *c-MET*. Гиперэкспрессия других микро-РНК практически всегда определяет метастатический тропизм к другим органам. Это снова доказывает предыдущий тезис о молекулярных особенностях опухоли с тропизмом к изолированному поражению брюшины [14].

Другой особенностью метастазирования является доступ опухолевых клеток к сосудам, и, следовательно, если в опухоли выражен ангиогенез, то чаще наблюдаются поражение метастазами печени и легких. В опухолях с тропизмом к поражению брюшины, как было описано выше, выражен стромальный элемент и сосудистая плотность, соответственно, ниже. То есть ангиогенез при поражении брюшины не является ключевым стартовым компонентом патогенеза метастазирования. Кроме того, при *CMS4* подтипе рака толстой кишки ангиогенез определяется не классическим VEGF, а TGF $\beta$ -опосредованным путем. В то же время в самих метастазах по брюшине дальнейший их рост может быть поддержан и классическим ангиогенезом [15], что подтверждается высокой концентрацией VEGF в асцитической жидкости. Хотя, справедливости ради нужно отметить, что концентрация VEGF в асцитической жидкости при раке толстой кишки минимальна в сравнении с большими раком желудка и раком яичников [16]. В то же время при метастатическом поражении брюшины раком толстой

кишки низкая концентрация VEGF в асцитической жидкости была ассоциирована с более благоприятным прогнозом [17].

В изучении развития метастазов в любом органе необходимо учитывать взаимодействия опухолевых клеток и клеток микроокружения. В контексте метастазирования по брюшине - это перитонеальные макрофаги, перитонеальные фибробласты и клетки мезотелия. Так инвазия в брюшину подразумевает распространение опухолевых клеток по эластической пластинке брюшины, что достигается созданием определенных условий со стороны клеток микроокружения.

Перитонеальные макрофаги создают первый барьер к распространению опухолевых клеток по брюшине вследствие секреции фактора некроза опухоли. С другой стороны, при формировании метастазов макрофаги могут приобретать фенотип M2 (обладающий иммуносупрессивным действием) за счет действия факторов, которые секретируются опухолевыми клетками (IL-6 и IL-10) и, тем самым, этот первый барьер может быть преодолен [18].

Клетки мезотелия, с одной стороны, участвуют в поддержании интраперитонеального гомеостаза, а, с другой - поддерживают колонизацию опухолевых клеток. После этого включаются в работу перитонеальные фибробласты, которые поддерживают рост метастазов, действуя как опухоль-ассоциированные клетки. Последние могут дифференцироваться из клеток мезотелия, механизм данного процесса пока неизвестен [19]. Субперитонеальные фибробласты могут способствовать процессам инвазии опухоли путем экспрессии генов (например,  $\alpha$ -SMA), ассоциированных с сокращением (изменением формы) опухолевых клеток, что способствует их проникновению между клетками мезотелия [20].

CD90(+)/CD45(-) - фенотип небольшой субпопуляции мезотелиально-подобных клеток, выделенных из перитонеальной жидкости и обладающих характеристиками мезотелиальных стволовых клеток. В опытах на животных данный подтип клеток, имплантированный вместе с клетками рака желудка, способствовал формированию метастазов в брюшной полости путем экспрессии коллагена I типа,  $\alpha$ -SMA, виментина и активации TGF- $\beta$ , то есть они действовали подобно миофибробластам. Таким образом, они создавали приемлемые условия для появления и роста метастазов [21].

Еще одна группа клеток микроокружения, которые способствуют пролиферации и распространению опухолевых клеток по брюшине - перитонеальные адипоциты. Они действуют через интернализацию липидов, что может рассматриваться в качестве источника питательных веществ для опухолевых клеток. Отмечено, что только у животных с ожирением

перитонеальные клетки способствуют росту опухоли. Этот факт подчеркивает необходимость учитывать не только компоненты микроокружения в поддержании распространения опухоли по брюшине, но и факторы, ассоциированные с организмом [22].

Выявленные находки позволили в дальнейшем сформировать некоторые положения патогенеза перитонеального карциноматоза при раке толстой кишки, отличного от классического развития метастазирования в другие органы. Образование метастазов по брюшине включает следующие шаги:

1. отделение клеток от первичной опухоли и приобретение свойств подвижности;
2. клетки избегают апоптоза (апоптоз вследствие нарушения или отсутствия адгезии клетки);
3. прикрепление к поверхности брюшины;
4. инвазия в брюшину;
5. пролиферация клеток с формированием метастаза [23, 24].

Первый этап происходит в результате спонтанной эксфолиации опухолевых клеток при росте первичной опухоли через серозную оболочку кишки. Также клетки могут распространяться по лимфатическим сосудам за счет повышенного давления интерстициальной жидкости, попадать в брюшную полость при перфорации кишки, хирургических манипуляциях, сопровождающихся вскрытием опухоли, пересечении лимфатических и кровеносных сосудов, послеоперационных инфекционных осложнений вследствие несостоятельности кишечного анастомоза. Все эти ситуации ассоциированы с высоким риском прогрессирования и развитием метастазов по брюшине [15,19,23]. На молекулярном уровне происходит уменьшение экспрессии молекул адгезии (интегрины, кадгерин, селектины) и изменения в цитоскелете клетки. Для избежания апоптоза при перитонеальном карциноматозе активируются калекреин-зависимые пептидазы (например, KLK7), формируются кластеры опухолевых клеток, которые продолжают пролиферировать. Такой механизм отличается от гематогенного метастазирования, при котором опухолевые клетки механически защищаются, формируя комплексы с тромбоцитами [25,26]. Кроме этого, усиливается экспрессия Src - тирозинкиназы, принимающей участие во взаимодействии клетки и матрикса и межклеточных взаимодействиях, что также повышает устойчивость опухолевых клеток к апоптозу [27].

На этапе адгезии опухолевых клеток к поверхности брюшины начинают экспрессироваться интегрины (в частности,  $\alpha2\beta1$ ), лиганды кинтегринам, протеогликаны, члены суперсемейства иммуноглобулинов (ICAV1, VCAM1, L1CAM), муцинов (например, MUC16) и EPCAM. В отличие от гематогенного метастазирования, где преобладают в процессах адгезии экспрессия CD44,

связывающая гиалуроновую кислоту; антигены крови sLea и sLex, связывающие селектины и компоненты экстрацеллюлярного матрикса, при перитонеальном распространении опухоли в процессах адгезии преимущественная роль отводится молекулам L1CAM и протеогликанам [23]. Однако точные различия на этом этапе между развитием имплантационного и гематогенного метастазирования неизвестны. В то же время необходимо подчеркнуть важность данного этапа в метастазировании по брюшине, так как не всегда свободно определяемые опухолевые клетки в брюшной полости приводят к формированию метастазов [23]. Интересно, что кроме молекулярного механизма формирования метастазов по брюшине, простая сила гравитации, перистальтика кишки, отрицательное давление вследствие работы диафрагмы [28], возможно, определяют преимущественную локализацию метастазов по брюшине: правый нижний квадрант, правый купол диафрагмы, гепатодуоденальная связка, большой сальник, висцеральная брюшина малого таза и париетальная брюшина [29]. Этап инвазии в брюшину включает экспрессию протеолитических ферментов (к примеру, группы металлопротеиназ: MMP2, MMP7, MMP9) опухолевыми клетками и стромальными клетками микроокружения. Кроме этого, отмечено, что опухолевые клетки способны вызывать апоптоз мезотелиальных клеток FAS-зависимым путем [30], а последние, в ответ на действие медиаторов воспаления, способны сокращаться и терять межклеточные контакты [31]. После инвазии опухолевые клетки не только должны выживать в новых условиях существования, но и поддерживать свою пролиферацию. На этом этапе, в отличие от гематогенного метастазирования, гиперэкспрессируется IGF-1, тогда как в очагах экстраперитонеальной локализации – проангиогенные факторы (VEGF, HIF-1 $\alpha$ ) [25].

### Диагностика

Диагностика метастатического поражения брюшины затруднена при любых онкологических нозологиях. Коупра с соавторами в 2019 году опубликовали систематический обзор диагностических возможностей различных методов визуализации в отношении выявления перитонеального карциноматоза при раке толстой кишки. Авторы включили в анализ 19 работ. В 6 исследованиях изучалась роль компьютерной томографии (КТ) [32]. Применение последней определяло чувствительность и специфичность в отношении выявления метастазов по брюшине на уровне 11-96% и 49-100%, соответственно [33-38]. Исследования отличались гетерогенностью полученных результатов, как в отношении размеров очагов, так и локализации. Наибольшая чувствительность для КТ описана для очагов в эпигастральной области



– до 67-98%, левого верхнего квадранта – до 40-86% и малого таза – до 60-73%. Наихудшие результаты по чувствительности описаны при поражении метастазами тонкой кишки (8-71%), области связки Трейца (20%). Если говорить о размерах, то чувствительность КТ при размерах очагов более 3 см составила 90-94%, а при размерах до 0,5 см – только 11-70%. Такой разброс данных в отношении небольших по размеру очагов, как пишут авторы обзора, может быть связан с различной методологией исследования – различная толщина срезов, а также расположением очагов [32]. Расчет индекса перитонеального карциноматоза (СТ-PCI) с помощью КТ был значимо ниже данных хирургической ревизии (S-PCI) только в 1 работе [33]. В других исследованиях выявлена корреляция между данными КТ и данными оперативного вмешательства по индексу PCI [35,37]. В другом метаанализе хоть и отмечена корреляция между СТ-PCI и S-PCI, тем не менее гиподиагностика распространённости поражения брюшины по данным КТ находится на уровне 12-33% [39].

Применение позитронно-эмиссионной томографии в сочетании с КТ (ПЭТ/КТ) позволяет выявить метастазы по брюшине при раке толстой кишки с чувствительностью 85% и специфичностью 88% [40]. Прямое сравнение ПЭТ/КТ и КТ было сделано в 4 исследованиях. В двух работах ПЭТ/КТ уступала КТ по чувствительности – 82% против 91% [41], 57% против 82% [42]. В то же время в двух оставшихся исследованиях – обратная ситуация – чувствительность ПЭТ/КТ была выше, чем у КТ как в первичной диагностике метастазов по брюшине – 82,6% и 30% [43], так и в отношении выявления рецидива после перитонеумэктоми – 100% против 85,1% [44].

Таким образом, утверждать, что ПЭТ/КТ – лучший метод в выявлении метастазов по брюшине при раке толстой кишки, невозможно. Следует отметить, что такие противоречивые результаты могут быть связаны с особенностью муцинозных и перстневидноклеточных опухолей, которые в меньшей степени накапливают меченую радиоизотопом глюкозу [32]. Более того, метаанализ исследований по сравнению КТ и ПЭТ/КТ, проведенный Laghi с соавторами, не выявил значимых различий между методами в отношении выявления перитонеального карциноматоза. Однако численно, как отмечают авторы, чувствительность и специфичность ПЭТ/КТ была выше – 82% против 66% и 93% против 77%, соответственно [39]. При сравнении магниторезонансной томографии (МРТ), диффузно-взвешенной МРТ (МРТ-DWI), ПЭТ/МРТ и ПЭТ/КТ в отношении выявления метастазов по брюшине при раке толстой кишки Brenndle с соавторами показали, что МРТ обладает самой низкой диагностической точностью – 46% против 47%, 57% и 66%, соответственно [45]. В исследовании

Satoh с соавторами, которое включало различные нозологии, в том числе и рак толстой кишки, чувствительность была выше у ПЭТ/КТ (89%) в сравнении с МРТ (56%) и мультidetекторной КТ (76%). При этом чувствительность МРТ-DWI была сопоставима с ПЭТ/КТ – 84%, однако проигрывало по положительной прогностической ценности – 72% против 93% [46]. Если же комбинировать МРТ и КТ, то повышается чувствительность КТ в отношении выявления метастазов по брюшине с 54% до 81% [47].

Парадоксально, что повышенный уровень СА-125 маркера рака яичников обладал более высокой чувствительностью и специфичностью в отношении поражения брюшины при раке толстой кишки в сравнении с результатами КТ, чего не удалось показать для РЭА [48].

Лапароскопия является неотъемлемым методом исключения перитонеального карциноматоза при операбельном раке желудка. Однако при раке толстой кишки большинство исследований отдает предпочтение лапаротомии в отношении диагностической точности выявления метастазов по брюшине и оценке PCI в сравнении со стандартной лапароскопией [49]. Разработка новых методов визуализации в процессе лапароскопии значимо повышает ее диагностические возможности – хромоэндоскопия (Flexiblespectral Imaging Color Enhancement) [50] и флуоресцентное окрашивание индоцианиновым зеленым с визуализацией в инфракрасном спектре [51-54]. Последний вариант позволяет повысить чувствительность с 72,4% до 96,9%; увеличивается и PCI с 7 до 10, при этом специфичность остается на уровне 60-100%. В то же время методика недостаточно эффективна при муцинозных опухолях [52].

Завершить раздел диагностики хочется рекомендациями по необходимости внедрения в клинику унифицированного протокола описания КТ при поражении метастазами рака толстой кишки брюшины, как это было предложено по примеру описания первичной опухоли прямой кишки [55], что позволит правильно планировать лечение на мультидисциплинарных консилиумах. Пример стандартизованного описания поражения брюшины реализован в алгоритме PAUSE, в котором описывается первичная опухоль и индекс перитонеального карциноматоза – “P”; наличие асцита и вовлечения передней брюшной стенки – “A”; неблагоприятные зоны поражения – “U”; вовлечение тонкой кишки и брыжейки – “S” и экстраперитонеальное поражение метастазами – “E”. Применение данного алгоритма позволяет повысить точность КТ в описании поражения брюшины [56]. Несмотря на стандартизацию, необходимо быть уверенным, что правильно соблюдается и протокол выполнения КТ в вашем учреждении. Обязательно применяется и внутривенное контрастирование, и

контрастирование *per os* нейтральным контрастным препаратом, что позволяет оценить состояние тонкой кишки и брыжейки. Рекомендуется применять толщину среза в 3 мм; за 15 минут до исследования принимать 750-1000 мл воды внутрь и за 15 минут до исследования вводить внутривенно контрастный препарат; затем получать изображения в артериальную и венозную фазы через 30 и 60 секунд после внутривенного контрастирования [32].

### **Критерии оценки распространенности поражения метастазами брюшины**

Одна из первых классификаций по степени поражения метастазами брюшины была разработана для рака желудка Японским обществом по изучению данного вида опухоли в 1981. Она включала в себя следующие градации:

- P0/Cy1 – метастазы по брюшине не визуализируются, но определяются опухолевые клетки в жидкости после лаважа 200 мл физиологического раствора хлорида натрия;
- P1 – опухолевые импланты определяются в области, которая непосредственно прилежит к желудку (выше поперечной ободочной кишки), включая большой сальник;
- P2 – метастазы в яичниках или несколько разрозненных метастазов в дистальных отделах брюшной полости;
- P3 – множественные метастазы в дистальных отделах брюшной полости [57].

В 1994 году была опубликована универсальная система оценки поражения метастазами брюшины – индекс перитонеального карциноматоза Gilly, который включает оценку размеров и распространения очагов по брюшине:

- стадия 0 – нет макроскопических изменений;
- стадия 1 – очаги <5 мм, локализованного характера (1 область брюшной полости);
- стадия 2 – очаги <5 мм, диффузного характера;
- стадия 3 – локализованные или диффузно расположенные очаги размерами 5-20 мм;
- стадия 4 – локализованные или диффузно расположенные очаги размерами >20 мм [58].

Jacquet и Sugarbaker предложили разделить брюшную полость и таз на 13 областей: 4 пересекающиеся линии образовали 9 областей в брюшной полости и малом тазу, и отдельно тонкая кишка была разделена на 4 зоны. Оценка распространённости поражения метастазами брюшины возможна только при полном рассечении спаек и ревизии состояния и висцеральной и париетальной брюшины. Дополнительно оцениваются и размеры имплантов по брюшине: отсутствие очагов – LS0, до 0,5 см – LS1, до 5,0 см – LS2 и

более 5 см – LS3. Если имеется сливное, даже тонкое, поражение брюшины, переходящее с брюшной полости в таз, то присваивается индекс LS3. Первичная опухоль, которая потенциально может быть удалена, не включается в данный индекс [59]. Данный вариант оценки состояния брюшины наиболее часто применяется в исследованиях при раке толстой кишки. Противораковым институтом Нидерландов разработана упрощенная система подсчета перитонеального индекса. Размеры очагов по брюшине описываются как большие - >5 см, средние - от 1 до 5 см, маленькие - <1 см и отсутствие очагов в 7 областях брюшной полости: I - таз, II - правый нижний отдел живота, III - большой сальник, поперечная ободочная кишка, селезенка, IV - правая поддиафрагмальная область, V - левая поддиафрагмальная область, VI - подпеченочная область и зона малого сальника, VII - тонкая кишка и брыжейка тонкой кишки [60].

### **Эффективность системной терапии**

Если рассматривать исследования по монотерапии фторурацилом, то медиана общей выживаемости пациентов с изолированным поражением брюшины метастазами рака толстой кишки составляла всего 6-8 месяцев [3]. Совокупный анализ исследований по изучению эффективности комбинации оксалиплатина с фторпиримидинами и иринотеканом с или без фторпиримидинов (N9741 и N9841) в первой линии показал преимущество оксалиплатин-содержащих схем лечения (ОР 0,62,  $p=0,005$ ). Во второй линии эффективность FOLFOX и иринотеканом в данной группе пациентов не различалась (ОР 1,1,  $p=0,321$ ) [61]. Возвращаясь к результатам анализа индивидуальных данных пациентов, принимавших участие в рандомизированных перспективных исследований по лечению метастатического рака толстой кишки в базе ARCAD, практически всем пациентам проводилась современная химиотерапия комбинациями фторпиримидинов с иринотеканом или оксалиплатином (FOLFIRI, FOLFOX), 15% проводилась терапия с включением антиангиогенных агентов, 10% - анти-EGFR моноклональных антител. Авторы показали, что пациенты с неперитонеальными метастазами с поражением только 1 органа ( $n=4385$ ) имели наилучшую общую выживаемость в сравнении с пациентами с изолированным перитонеальным карциноматозом ( $n=194$ ). При этом медиана общей выживаемости при изолированном поражении легких составила 24,6 месяца против 19,1 месяцев при изолированном поражении печени и 16,3 месяцев – брюшины. Эти различия были наиболее выражены в популяции пациентов, которым проводилась дополнительно терапия таргетными препаратами (ОР 0,43-0,54). При этом медиана общей выживаемости в этой группе пациентов при изолированном поражении брюшины

составила 17,1 месяца против 19,3 месяцев при изолированном экстраперитонеальном метастазировании. В то же время при сравнении общей выживаемости пациентов с изолированным поражением брюшины и пациентов с поражением метастазами 2 и более органов, за исключением брюшины (n=3385), отличий получено не было (ОР 0,99, 95% ДИ 0,82-1,2, p=0,957). Так же как и не различалась выживаемость пациентов с изолированным карциноматозом брюшины и пациентов при сочетании поражения брюшины с метастазами в один - другой орган (n=455) (ОР 1,1, 95% ДИ 0,89-1,37, p=0,37) [5].

Еще в одной работе – ретроспективной оценке эффективности предоперационного назначения различных режимов химиотерапии с таргетными препаратами у 115 больных с перитонеальным карциноматозом рака толстой кишки, была показана лучшая общая выживаемость среди пациентов, которым проводилась комбинация FOLFOX с бевацизумабом [62]. При этом авторы достигли частоты выраженного патоморфологического эффекта на уровне 20%, что несколько ниже в сравнении с метастазами в печени – 36%, в то же время частота полных патоморфологических ответов не различалась – 9,7% и 10% [63,64]. В исследовании Chia с соавторами применение современных режимов химиотерапии без (n=50) и с таргетными агентами (n=32) при изолированном карциноматозе брюшины рака толстой кишки позволило достичь медианы общей выживаемости в 16 и 23 месяцев, соответственно, без использования хирургических методов лечения [65]. Такой недостаточный ответ на стандартную химиотерапию, по-видимому, обусловлен превалированием CMS4 (мезенхимального) подтипа рака толстой кишки при опухолях с поражением брюшины, который характеризуется химиорезистентностью и неблагоприятным прогнозом [4,66,67]. С другой стороны, превалирование в популяции больных с изолированным перитонеальным карциноматозом пациентов с правосторонней локализацией первичной опухоли, мутацией в гене *BRAF* также определяет неблагоприятный прогноз и меньший ответ на стандартную химиотерапию и терапию анти-EGFR антителами. Для этих подгрупп больных наилучшие результаты описаны при применении в первой линии режима FOLFOXIRI с бевацизумабом. Опубликованный в 2017 году метаанализ 8 исследований, посвященный сравнению эффективности режима FOLFOXIRI со стандартными комбинациями FOLFOX или FOLFIRI, показал значимое превосходство интенсифицированного режима лечения в отношении достижения частоты объективных эффектов (ОР 1,25, 95% ДИ 1,15-1,37), частоты выполнения R0 резекций органов с метастазами (ОР 1,99, 95% ДИ 1,32-3), выживаемости без прогрессирования (ОР 0,73, 95% ДИ 0,62-0,84) и общей выживаемости (ОР 0,75, 95% ДИ

0,63-0,9). Однако показатели общей выживаемости были взяты только из данных 4 работ [68].

Следует отметить, что в поданализе исследования TRIBE (сравнение FOLFOXIRI с бевацизумабом против FOLFIRI с бевацизумабом) выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость была выше в группе FOLFOXIRI+бевацизумаб только при правосторонней локализации первичной опухоли (ОР 0,59 против 0,89, p для взаимодействия 0,099) и ОВ (ОР 0,56 против 0,99, p для взаимодействия 0,03). При правосторонней локализации режим FOLFOXIRI был эффективен вне зависимости от мутационного статуса [69]. Аналогичные результаты были получены в отношении режима FOLFOXIRI с бевацизумабом при правосторонней локализации первичной опухоли и в исследовании STEAM [70], но не в исследовании Shmoll с соавторами [71]. Тем не менее, в контексте рассмотрения перитонеального карциноматоза как потенциально-операбельной ситуации при раке толстой кишки, контроль болезни и объективный эффект чаще всего регистрируется при применении режима FOLFOXIRI [68].

При изучении влияния режима FOLFOXIRI с бевацизумабом на очаги по брюшине при раке толстой кишки (выполнялось хирургическое лечение после 4 курсов предоперационной терапии) оказалось, что меняется характер микроокружения в опухоли в сравнении с пациентами, которым предоперационная химиотерапия не проводилась. Отмечено увеличение числа CD4+ Т лимфоцитов хелперов с провоспалительной активностью и уменьшение иммуносупрессивного подтипа Th1 регуляторных лимфоцитов. Также увеличивалась и нейтрофильная инфильтрация очагов по брюшине. Авторы пришли к выводу, что данный режим лечения, кроме непосредственного противоопухолевого воздействия, способен индуцировать и иммуно-опосредованную гибель опухолевых клеток [73].

Такие тенденции позволили предположить, что при изолированном перитонеальном карциноматозе рака толстой кишки наиболее эффективной опцией системной терапии будет являться применение режима FOLFOXIRI.

Выбор таргетного препарата определяется общими принципами назначения моноклонального антитела при метастатическом раке толстой кишки. Известно, что при локализации первичной опухоли в правых отделах толстой кишки бевацизумаб является препаратом выбора в комбинации с обычными двойными схемами терапии (FOLFOX/FOLFIRI). При локализации опухоли в левых отделах преимущество имеют анти-EGFR антитела. При *BRAF* мутации – добавление анти-EGFR антител к режимам FOLFOX или FOLFIRI является неэффективной опцией [74]. Однако, если речь идет о режиме FOLFOXIRI, здесь выбора

таргетного препарата становится не столь очевидным. Так, по результатам небольшого рандомизированного исследования II фазы VOLFI, в котором авторы сравнили режимы FOLFOXIRI и FOLFOXIRI с панитумумабом при изолированном поражении метастазами рака толстой кишки печени с диким типом генов *RAS*, частота объективных эффектов в контрольной группе составила 60,6% против 87,3% в группе с панитумумабом ( $p=0,004$ ). При этом данное различие оставалось значимым и при правосторонней локализации первичной опухоли (ОШ 3,89, 95% ДИ 0,54-27,87), и при мутации в гене *BRAF* (ОШ 14,93, 95% ДИ 1,03-200). Увеличение частоты объективного эффекта при добавлении панитумумаба привело и к увеличению частоты резекций печени, особенно в группе с потенциально-операбельными метастазами – 36,4% против 75% ( $p=0,05$ ), в группе неоперабельных метастазов – 0 и 14% ( $p=0,08$ ), соответственно [75]. Аналогичные результаты были получены в исследовании FOCULM, сравнивавшем комбинацию FOLFOXIRI с или без цетуксимаба при неоперабельных метастазах рака толстой кишки в печени [76]. В исследовании PRODIGE14-ACCORD21 добавление цетуксимаба к режимам FOLFOX/FOLFIRI или FOLFOXIRI увеличивало частоту выполнения R0/1 резекций печени до 55,6% в сравнении с комбинациями с бевацизумабом – 44,7% ( $p=0,087$ ) [77].

Таким образом, если перед нами стоит задача достичь контроля болезни и уменьшить индекс перитонеального канцероматоза при изолированном поражении брюшины раком толстой кишки, то режимом выбора терапии следует считать, по нашему мнению, схему FOLFOXIRI. В отсутствии прямого сравнения бевацизумаба и анти-EGFR антител с данным режимом в исследованиях III фазы, можно сделать вывод, что при левосторонней локализации в отсутствии мутаций в генах *RAS* следует выбирать анти-EGFR антитела. При мутации в гене *BRAF* или правосторонней локализации опухоли – выбор за бевацизумабом. При изначальном решении о последующей попытке радикальной перитонеумэктомии можно на предоперационном этапе назначать и анти-EGFR антитела с режимом при правосторонней локализации первичной опухоли.

После радикального удаления метастазов по брюшине следует отменить иринотекан и моноклональные антитела и довести адъювантный этап лечения суммарно до 6 месяцев. Такой подход определяется тем, что в отсутствии проявлений болезни при раке толстой кишки (при III стадии болезни или после метастазэктомии) ни иринотекан [78-81], ни анти-EGFR антитела [82,83], ни бевацизумаб [84,85] не улучшают выживаемость пациентов.

### Хирургическое удаление метастазов по брюшине

В предыдущем разделе мы подчеркнули, что выбор того или иного режима системной терапии определяется возможностью хирургического удаления метастазов по брюшине. И если для метастазов рака толстой кишки в печени или легких такой подход значительно увеличивает продолжительность жизни, а у 25% позволяет избавиться от заболевания [86,87], то так ли это очевидно для изолированного перитонеального карциноматоза?

Объем опухолевого поражения брюшины лимитирует выполнение R0 резекций. Перед проведением хирургического удаления метастазов по брюшине оценивают индекс перитонеального карциноматоза (PCI), который, напомним, учитывает распространение метастазов на различные области брюшной полости и таза, по тонкой кишке и толстой кишке. Данный индекс более точный, чем индекс Gilly [88, 89]. Индекс включает значения от 0 до 39, чем выше показатель, тем больше требуется объем хирургического вмешательства, что определяет и больший процент послеоперационных осложнений и летальности. Считается, что индекс более 20 станет относительным противопоказанием к внутрибрюшинной химиоперфузии, так как в данных условиях трудно достичь полной циторедукции. В связи с чем, на 1 этапе при лапаротомии или лапароскопии проводится оценка распространения перитонеального карциноматоза, возможности циторедукции. Ряд хирургов выделяют следующие значимые противопоказания к удалению метастазов по брюшине:

- возраст старше 70 лет или WHO 2 и более или значимая сопутствующая патология;
- экстраперитонеальные метастазы (вне брюшной полости или более 3 метастазов в печени);
- прогрессирование на системной терапии.

К относительным противопоказаниям относятся:

- распространенный карциноматоз по данным КТ или с выраженным клиническим значением;
- ожирение (ИМТ>40);
- непроходимость;
- экстраперитонеальные метастазы в брюшной полости.

Если у пациента не выявлено ни одного противопоказания, рекомендуется направить пациента в референсный центр по перитонеумэктомии. При одном относительном противопоказании можно посоветоваться с референсным центром о целесообразности вмешательства. При одном значимом или 2 относительных противопоказаниях – повторная оценка через 3 месяца при достижении объективного эффекта на системной терапии и при исчезновении противопоказаний. При более чем 1 значимом противопоказании или 3 относительных показана только системная терапия [90].



Впервые хирургическое лечение перитонеального карциноматоза было разработано в Японии в 1980 году, и стало популярной опцией в конце 80-х годов прошлого века в Европе и в 1995 году в США [91]. До последнего времени применялся срединный лапаротомический доступ, который позволяет тщательно изучить состояние брюшины, выполнить перитонеумэктомию и резекцию органов при необходимости. Для максимальной циторедукции необходимо рассечения спаек, если они есть после ранее перенесенных хирургических вмешательств на органах брюшной полости. Зачастую требуется полная мобилизация печени, чтобы оценить состояние брюшины за органом. Полная циторедукция достигается, когда размеры резидуальных очагов не превышают 2,5 мм. Крупные очаги полностью удаляются хирургически, мелкие – с помощью электрокоагуляции. Перитонеумэктомию включает перитонеумэктомию правого верхнего квадранта, левого верхнего квадранта, малого таза, перитонеумэктомию малого сальника с бурсэктомией и частичную переднюю перитонеумэктомию [92]. Большой сальник удаляется, так как может быть поражен метастазами даже если визуально неизменен. Участки пораженной висцеральной брюшины также должны быть удалены, что иногда требует резекции органов (спленэктомию, правосторонняя гемиколэктомию, иногда резекция желудка). Некоторые участки можно подвергнуть электродеструкции с немедленным охлаждением с целью избежать повреждения подлежащего органа.

Ранее предполагалось, что после полной циторедукции можно оставить неизмененную брюшину и провести внутрибрюшинную гипертермическую химиоперфузию (HIPEC) – это должно было снизить риск прогрессирования заболевания.

### **Внутрибрюшинная химиотерапия с гипертермической химиоперфузией**

Внутрибрюшинное введение химиопрепаратов позволяет создать высокую концентрацию лекарственного вещества, контактирующего с брюшиной при низкой концентрации в системном кровотоке. Это обусловлено, в первую очередь, наличием «перитонеально-плазматического барьера» и высоким молекулярным весом используемых препаратов. Этот физиологический барьер ограничивает резорбцию гидрофильных препаратов, таких как митомицин С, доксорубицин и цисплатин из брюшной полости в кровоток.

Внутрибрюшинное введение с противоопухолевой целью растворов описано еще в 1744-1745 гг. английским хирургом Кристофером Варриком, который вводил смесь «Бристольской воды» и вина «Кларет» у женщины с рецидивирующим асцитом [93]. С момента открытия химиопрепаратов, уже с середины прошлого века, стал изучаться мустарген при внутрибрю-

шинном введении [95].

Наиболее часто в современной литературе речь идет о применении препаратов платины (цисплатин, оксалиплатин), митомицина С и иринотекана. Как считается, дополнительная гипертермия должна потенцировать противоопухолевую активность химиопрепаратов и способствовать их лучшему проникновению между клетками в толщу брюшины [96,97]. А для лучшего распределения по брюшной полости необходимо вводить препарат, растворенный в достаточно большом объеме жидкости [98]. Кроме этого, рядом хирургов поддерживалось мнение, что при интенсивном лаваже удаляются и опухолевые клетки с брюшины [99], что не подтвердилось позже в проспективных рандомизированных исследованиях [100].

Как считается, дополнительная гипертермия должна потенцировать противоопухолевую активность химиопрепаратов и способствовать их лучшему проникновению между клетками в толщу брюшины. Это происходит за счет того, что гипертермия сама характеризуется цитотоксическим действием на опухолевые клетки, больше, чем на нормальные ткани; низкой терморезистентностью опухолевых клеток по сравнению с нормальными, что обусловлено особенностями васкуляризации опухоли, причем гипертермия тем эффективнее, чем менее васкуляризована опухоль. При этом эффективность гипертермии определяется двумя показателями – уровнем температуры и длительностью ее стабильного поддержания. Экспериментальные исследования показали, что эффективность гипертермии лежит в пределах от 40,5 до 42,5°C. Причем повышение степени проникновения химиопрепарата возрастает по мере снижения интерстициального давления в ткани опухоли, что достигается при повышении температуры. Так, при температуре в брюшной полости 42-43°C глубина проникновения химиопрепаратов увеличивается до 3 мм, что может определять размеры резидуальных отсеков на брюшине [96,97].

Немедленное применение HIPEC после полной циторедукции позволяет проникать химиопрепаратам через 2-3 слоя клеток в толщу брюшины еще до формирования фиброзной ткани (спаек). Впервые это было показано на мышинных моделях при применении доксорубицина. В дальнейшем синергетический эффект был доказан в эксперименте и для митомицина С, цисплатина и оксалиплатина [101].

Передняя брюшная стенка может находиться как в открытом состоянии, так и быть закрыта в процессе HIPEC. При открытой технике брюшная стенка приподнимается с формированием подобия воронки, через которую входят дренажи, подводящие и отводящие раствор с химиопрепаратом, который нагревается в соответствующем оборудовании. При закрытом методе кожа ушивается, а подводящие и отводящие



дренажи устанавливаются через отдельные разрезы. Брюшная полость наполняется раствором, который циркулирует посредством работы насоса. В среднем, процедура занимает 90 минут с температурой раствора – 42-43°C. Таким образом, сама методика делится на 3 этапа: ревизия, циторедуктивная хирургия и HIPEC, и по длительности может, в среднем, занимать 4-10 часов [91,102].

Частота послеоперационных осложнений и смертности после применения открытого метода составляет 43,5-55% и 0-5,1%, соответственно [103-105]. Применение же закрытых методик HIPEC ассоциировано с меньшим числом послеоперационных осложнений, лучшим поддержанием температурного режима, гемодинамики пациента и защищает персонал от экспозиции к химиопрепаратам [103,104,106]. В то же время показано, что распределение препарата по брюшной полости и степень проникновения препаратов в толщу брюшины выше при применении открытого метода [107].

Как и при раке желудка при изолированном поражении брюшины раком толстой кишки применение циторедукции с внутрибрюшинной химиотерапией позволяет достичь хороших результатов выживаемости. К примеру, анализ лечения 523 больных данной популяции привел к показателям 3-годовой общей выживаемости 41%, а 5-летней выживаемости – 27%. Многофакторный анализ выявил в качестве независимых признаков благоприятного прогноза: низкие значения перитонеального индекса, полноту циторедукции CCR-0, отсутствие поражения лимфоузлов и проведение адьювантной химиотерапии [108]. Авторы подчеркивают, что при достижении полной циторедукции (CCR-0) медиана общей выживаемости увеличивается более, чем в 1,5 раза – 32,4 месяца против 19 месяцев при субоптимальной циторедукции [109].

Было проведено даже небольшое проспективное рандомизированное исследование, показавшее преимущество комбинированного подхода над химиотерапией, только следует отметить, что в группе контроля пациенты получали только 5-фторурацил и лейковорин, да и группы, несмотря на рандомизацию, были несбалансированы по ряду прогностических факторов [110].

Метаанализ исследований о роли циторедуктивных операций с HIPEC при перитонеальном карциноматозе рака толстой кишки, опубликованный в 2017 году, включил 12 работ и однозначно продемонстрировал преимущество данного подхода в отношении 5-летней общей выживаемости в сравнении со стандартной системной терапией: ОР 2,22 (95% ДИ 1,83-2,69,  $p < 0,00001$ ) [111]. В то же время была выявлена гетерогенность включенных в анализ исследований ( $I^2$  40%,  $p = 0,07$ ), не было включено ни одного рандомизированного проспективного исследования III

фазы, да и большинство работ имели ретроспективный характер, не исключая заведомую селекцию больных: обширные операции проводились при условии хорошего соматического статуса, менее выраженной сопутствующей патологии, меньшего объема поражения брюшины и т.п. Это все напоминает историю о положительной роли удаления бессимптомной первичной опухоли при метастатическом раке толстой кишки, когда во всех метаанализах ретроспективных исследований было показано, что эта опция значительно увеличивает продолжительность жизни. Но в первом же рандомизированном проспективном исследовании III фазы было показано, что ничего, кроме ухудшения переносимости последующего системного лечения при метастатическом раке толстой кишки, удаление первичной опухоли не дает [112].

Так или иначе, но к настоящему времени было опубликовано более 50 работ по оценке эффективности различных химиопрепаратов во время HIPEC при раке толстой кишки. Рассмотрим результаты исследований по наиболее часто применяемым химиопрепаратам. Фторурацил – один из основных препаратов, применяемых в системной терапии рака толстой кишки, признан неэффективным для внутрибрюшного введения при данной нозологии по результатам рандомизированных исследований по профилактике метастатического поражения брюшины. Так, в исследовании Vaillant с соавторами было рандомизировано 267 больных раком толстой кишки II-III стадии в группу с адьювантной внутривенной терапией фторурацила и комбинацией внутривенного и внутрибрюшинного интраоперационного введения фторурацила. Последний вариант введения никак не сказался на показателях выживаемости без признаков болезни, общей выживаемости и частоте развития перитонеального карциноматоза, и лишь поданализ выявил улучшение выживаемости без признаков болезни при II стадии [113]. Такие же неудовлетворительные результаты были получены и в исследовании Nordlinger с соавторами [114].

Иринотекан изучался как в монотерапии, так и в комбинациях с препаратами платины и митомицином С. При этом никакого клинического эффекта от добавления данного ингибитора топоизомеразы I к другим химиопрепаратам при внутрибрюшинном введении получено не было [115]. Последний, нужно сказать, хотя и обладает противоопухолевой активностью, также свой эффект проявляет и через метаболит SN38, процесс превращения в который, преимущественно, происходит в печени, что, по-видимому, и объясняет его неудачи в этой области.

Чаще других при HIPEC применяются митомицин С и оксалиплатин. Ретроспективное сравнение этих двух препаратов по разным исследованиям показы-

вает противоречивые результаты. В одной работе выигрыш остался за митомицином [116]. С теоретических позиций это можно объяснить тем, что при изолированном карциноматозе преобладает мезенхимальный фенотип рака толстой кишки (CMS4), при котором добавление оксалиплатина к фторпиримидинам в адъювантном назначении при III стадии не улучшало выживаемость пациентов [117]. Однако это не подтверждается клиническими исследованиями по эффективности режима FOLFOX при метастазах по брюшине рака толстой кишки [62]. В другой работе безоговорочное преимущество оказалось за оксалиплатином [118]. Систематический обзор, авторы которого поставили целью сравнение митомицина С и оксалиплатина при HIPEC перитонеального карциноматоза рака толстой кишки, включил результаты 46 исследований. Так как методики HIPEC, а также степень выраженности карциноматоза различались между исследованиями, напрямую два препарата в итоге не сравнили. Но авторы представили значения снижения относительного риска смерти при применении этих препаратов в сравнении со стандартным системным лечением по результатам 6 работ: для оксалиплатина - ОР составило 0,79 (95% ДИ 0,64-0,88); для митомицина С - 0,79 (95% ДИ 0,71-0,85) [119].

Еще один популярный препарат, применяющийся при HIPEC - мелфалан. Ретроспективное сравнение эффективности мелфалана и митомицина С при HIPEC после циторедуктивной хирургии перитонеального карциноматоза рака толстой кишки выявило улучшение выживаемости без прогрессирования в пользу митомицина (медиана составила 20 месяцев для митомицина С против 11 месяцев – для мелфалана,  $p=0,05$ ). Однако графики общей выживаемости не различались: медиана для мелфалана составила 36 месяцев против 28 месяцев для митомицина С [120]. Аналогично и в исследовании группы Sugarbaker P.H., в котором сравнили период времени, когда применялся митомицин и фторурацил и период времени, когда при HIPEC перешли на мелфалан – статистических различий в выживаемости между данными подходами авторы не получили [121]. Полученные находки подчеркивают отсутствие принципиальных различий в клинической эффективности между митомицином С, мелфаланом, препаратами платины, когда их применяют в условиях HIPEC при раке толстой кишки. Как объяснить полученные результаты исследований? Вероятно тем, что HIPEC при раке толстой кишки просто не работает.

В 2018 году были представлены результаты первого рандомизированного исследования III фазы по определению роли внутрибрюшинной гипертермической химиоперфузии при изолированном поражении брюшины метастазами колоректального рака.

Пациентам в отсутствие экстраперитонеального поражения, при стабилизации заболевания на фоне предшествующей системной терапии не менее 6 месяцев, индексе перитонеального карциноматоза менее 25, выполнялась макроскопически полная циторедукция R0/R1 или оставались резидуальные очаги размерами  $\leq 1$  мм (R2). В дальнейшем проводилась внутрибрюшинная гипертермическая химиоперфузия или все ограничивалось только циторедуктивной операцией. В качестве химиотерапии применялись оксалиплатин  $460 \text{ мг/м}^2$  в течение 30 минут внутрибрюшинно и лейковорин  $20 \text{ мг/м}^2$  или 5-фторурацил  $400 \text{ мг/м}^2$  внутривенно во время внутрибрюшинной процедуры. Авторы выявили отсутствие уменьшения риска прогрессирования (ОР 0,9, 95% ДИ 0,69-1,19,  $p=0,486$ ) и смерти (ОР 1,0, 95% ДИ 0,73-1,37,  $p=0,995$ ) при выполнении HIPEC. Отметим, что хотя внутрибрюшинный компонент при раке толстой кишки не работал, исследователи показали высокие показатели медианы продолжительности жизни при выполнении циторедукции при изолированном поражении брюшины - 41 месяц в обеих группах [122].

Несмотря на отрицательные результаты представленной выше работы, большинство хирургов, занимающихся внутрибрюшинной химиотерапией, ожидали еще результаты другого проспективного рандомизированного исследования, которое было представлено на конференции ASCO 2019. В данное исследование было включено 204 больных раком толстой кишки с высоким риском развития метастазов по брюшине (T4N0-2M0 или перфорация стенки кишки). После проведения хирургического лечения пациентов рандомизировали в две группы с или без внутрибрюшинной гипертермической химиоперфузией. Режим внутрибрюшинной химиотерапии был аналогичен, использованному в предыдущей работе, всем пациентам проводилась адъювантная системная химиотерапия. В качестве основного критерия эффективности выбрана частота развития метастазов по брюшине, для диагностики которой через 18 месяцев с момента хирургического лечения выполнялась диагностическая лапароскопия. Авторы работы пришли к выводу, что ни частота развития метастазов по брюшине (21%), ни выживаемость до развития метастазов по брюшине (ОР 0,86, 95% ДИ 0,51-1,54) не различалась между группами сравнения [123].

В 2018 году в виде постерного доклада были представлены результаты проспективного рандомизированного исследования III фазы по оценке необходимости проведения повторной лапаротомии (second-lock) с HIPEC после завершения адъювантной химиотерапии – PROPHYLOCHIP-NCT-01226394. В исследование было включено 150 больных раком толстой кишки с высоким риском прогрессирования в виде метастатического поражения брюшины: с метастазами в яични-

ках, с минимальным карциноматозом, с перфорацией толстой кишки. На первом этапе всем пациентам выполнялось радикальное хирургическое лечение, проводилось 6 месяцев адьювантной химиотерапии с включением оксалиплатина и фторпиримидинов с или без таргетной терапией, и только при отсутствии прогрессирования по КТ, при нормальных значениях опухолевых маркеров пациенты рандомизировались в группу наблюдения или в группу лапаротомии с HIPEC. В группе повторной операции (n=71) у 52,1% выявлены метастазы по брюшине со средним значением индекса перитонеального карциноматоза 4 (0-26), 92% из данной группы выполнен HIPEC с оксалиплатином. Осложнения в послеоперационном периоде 3-4 степени зарегистрированы у 41% больных. Показатели 3-летней выживаемости без признаков болезни (основной критерий эффективности данного исследования) в группе наблюдения составили 51% против 44% в группе HIPEC (p=0,75); 3-летней общей выживаемости – 80% против 79% (p=0,63); частота поражения брюшины – 32% против 33%, соответственно [124].

Таким образом, у нас в арсенале имеется 3 рандомизированных проспективных исследования, результаты которых доказывают, что HIPEC при раке толстой кишки не улучшает ни показатели выживаемости пациентов, ни частоту прогрессирования по брюшине.

### **Цикловое внутрибрюшинное введение химиопрепаратов**

Еще один подход, который исследовался при перитонеальном карциноматозе, - регулярные, начиная с раннего послеоперационного периода, введения химиопрепаратов в брюшную полость через внутрибрюшинные порты системы, что теоретически удлиняет экспозицию опухолевых клеток с химиопрепаратом до нескольких дней. Можно выделить EPIC – Early postoperative intraperitoneal chemotherapy – ранняя послеоперационная внутрибрюшинная химиотерапия, и PIPAC – Pressurised Intraperitoneal Aerosol Chemotherapy – аэрозольная внутрибрюшинная химиотерапия под давлением. Данные варианты химиотерапии можно проводить циклами в течение длительного срока и совместно с системным введением химиопрепаратов.

Рандомизированное исследование с EPIC во Франции в 1995 году было преждевременно завершено по причине, как сообщают авторы, неудовлетворенностью лечением пациентами в контрольной группе. В 1996 году инициировали исследование с обновленным дизайном: циторедуктивная операция против хирургического лечения с EPIC. В этот раз медленный набор больных определил завершение исследования досрочно – за 4 года было рандомизировано только 35 пациентов. Но даже на этой выборке никако-

го эффекта от EPIC на показатели выживаемости зарегистрировано не было. Тем не менее, авторы сообщили о 60% двухлетней выживаемости у пациентов после циторедуктивной операции, что для химиотерапии метастатического рака толстой кишки в то время было недостижимым рекордом [125]. Нерандомизированные работы и анализ многоцентровых регистров по комбинации циторедуктивной хирургии и EPIC показывали похожие цифры отдаленной выживаемости [109,126]. Поэтому сказать, что этот метод оказывает благоприятное действие при перитонеальном карциноматозе рака толстой кишки, нельзя. Как и в исследованиях с HIPEC, при выполнении хирургии в объеме CCR-0 достигались максимальные показатели выживаемости (5-летняя общая выживаемость составила 19-49%) [106,127].

Chua с соавторами ретроспективно оценили эффективность HIPEC с митомицином C, EPIC со фторурацилом и стандартную системную терапию у 294 пациентов с перитонеальным карциноматозом рака толстой кишки. Различий при сравнении групп HIPEC, EPIC и комбинации HIPEC и EPIC по медианам общей выживаемости получено не было: 36, 38 и 43 месяца, соответственно (p=0,715) [65]. В то же время исследования показывают, что сочетание HIPEC и EPIC значительно увеличивает число осложнений 3-4 степени [128]. Принимая во внимание, что HIPEC при раке толстой кишки не эффективно, а добавление к нему EPIC или применение EPIC в самостоятельном варианте не приводит к значимому улучшению выживаемости в изучаемой популяции больных даже по результатам ретроспективных исследований, можно сделать вывод, что применение EPIC в стандартной практике не может быть рекомендовано.

PIPAC проводится в условиях высокого давления (12 мм рт. ст. при 37° в течение 30 минут) CO<sub>2</sub>, что превращает вводимый раствор химиопрепарата, например, оксалиплатина в аэрозоль, который распространяется по всей брюшной полости. На животных моделях было показано, что глубина проникновения химиопрепарата в брюшину составляет до 300 мкм вблизи помпового распылителя, тогда как в отдаленных областях брюшной полости проникновение препарата значительно слабее (желудок, поддиафрагмальная зона) [129]. Возможно, поэтому эффективность PIPAC признается недостаточной без дополнительной системной химиотерапии [130]. Кроме этого, не рекомендуется одновременное проведение циторедуктивной хирургии и PIPAC, так как это связано с повышением локальной токсичности [131].

Изучение данного варианта внутрибрюшинной химиотерапии при раке толстой кишки пока ограничено исследованиями II фазы при различных клинических ситуациях: при нерезектабельном поражении брюшины на фоне системной химиотерапии,

после циторедуктивных хирургических вмешательств или системной терапии. Нежелательные явления при применении данной методики развиваются у 9,5-23% пациентов; смертность - у 0-6,8% больных [130,132,133]; медиана выживаемости после RIPC доходит до 15,7 месяцев [133]; индекс перитонеального карциноматоза в представленных работах уменьшается на 50-88% при комбинации с системной терапией. Другая область изучения применения RIPC - симптоматическая терапия при таких проявлениях болезни, как боль, асцит и кишечная непроходимость. После 3 курсов с медианой сроков госпитализации 3 дня авторы отмечали купирование перечисленных симптомов у 63,3%, 60% и 45,5%, соответственно [132].

Следующим этапом развития RIPC стала его комбинация с электростатическим подходом - eRIPC, основанном на электростатической преципитации аэрозольных частиц. Какchekeeva с соавторами на животных моделях показала, что во время eRIPC препараты лучше проникают в брюшину, что позволило применять меньшую концентрацию химиопрепарата и значительно сократить сроки восстановления после внутрибрюшинной аэрозольной химиотерапии [134]. Отметим, что ни одного проспективного рандомизированного исследования III фазы с RIPC не проведено, что ограничивает применение данного метода пока только рамками клинических исследований.

Отдельно выделяется нормотермическая внутрибрюшинная химиотерапия на протяжении длительного времени (NIPEC-LT), которая изучалась при раке яичников и раке желудка [135] и, по сути, представляет собой сочетание внутривенного и внутрибрюшного введения химиопрепарата в течение нескольких курсов. Однако, по результатам III фаз исследований, никакого статистически значимого улучшения общей выживаемости от добавления внутрибрюшинного компонента к системной химиотерапии получено не было ни при раке желудка [136], ни при раке яичников [137]. При раке толстой кишки пока клинических исследований в литературе не представлено.

#### **Оптимальный профиль пациента для перитонеумэктомии**

В большинстве работ по результатам многофакторного анализа независимым благоприятным признаком, ассоциированным с выживаемостью, являлось проведение химиотерапии: в поздних работах - адъювантная [108], в современных - периоперационная [121]. В исследовании III фазы PRODIGE 7 одним из критериев включения был факт проведения химиотерапии в течение 6 месяцев, в котором исследователи достигли медианы общей выживаемости в 41 месяц при выполнении циторедукции [122]. Таким образом, если онколог знает, что у пациента есть метастазы по

брюшине при неосложненной первичной опухоли, на первом этапе оптимально провести химиотерапию, достичь, как минимум, стабилизации и провести хирургическое вмешательство. В этой связи оптимальным видится достижение и нормализации уровня онкомаркеров перед выполнением хирургического вмешательства на фоне предоперационной химиотерапии. В ряде работ повышенный уровень, например, Ca-15-3 и Ca-125, ассоциирован с неоптимальным объемом последующей операции, и, как следствие, ранним прогрессированием заболевания [121]. В то же время при выявлении во время операции по удалению первичной опухоли синхронных локально расположенных метастазов по брюшине возможно рассмотреть одномоментное их удаление с последующей адъювантной химиотерапией. Это снижает риск выполнения в последующем более расширенных хирургических вмешательств и формирования постоянной колостомы [138].

Что понимать под операбельным состоянием в данной ситуации? Можно ориентироваться на PCI. Так, по результатам ROC-анализа в исследовании Froysnes с соавторами было выявлено, что PCI более 12 со 100% специфичностью предсказывал прогрессирование после циторедуктивной хирургии при раке толстой кишки [139]. Этот же показатель напрямую коррелирует и с полнотой циторедукции [121,140]. Еще один индекс предсказания возможности выполнения полной циторедуктивной хирургии - PSS - priorsurgical score. При PSS-3 выполняется диссекция 5 и более из 9 областей брюшной полости, при PSS-2 - от 2 до 5 областей - 2, при PSS-1 - 1 область, при PSS-0 - выполняется только биопсия неизменной брюшины, биопсия под контролем КТ или цитологическое исследование лаважа при лапароцентезе. При раке толстой кишки данную систему ретроспективно валидировали на 407 пациентах с метастазами по брюшине. При медиане наблюдения 13 месяцев с момента хирургии, медиана продолжительности жизни составила для PSS-0 - 180 месяцев, для PSS-1 - 30,4 месяца, для PSS-2 - 30,5 месяцев, для PSS-3 - 21,3 месяцев ( $p < 0,001$ ) [141]. Таким образом, значение PSS также необходимо принимать в расчет при оценке целесообразности выполнения обширного хирургического вмешательства.

Мутационный статус опухоли может приниматься во внимание в совокупности с другими прогностическими факторами, но не может рассматриваться как абсолютное противопоказание к циторедукции. Так, известно о неблагоприятном прогностическом значении мутации в гене *BRAF* (V600E), но появляются работы, что и радикальная резекция печени с метастазами даже в этой группе пациентов показывает выживаемость без признаков болезни аналогичную пациентам без данной мутации (OR 1,16, 95% ДИ 0,72-



1,85;  $p=0,547$ ) [142]. Таким образом, если у пациента с мутацией в гене *BRAF* при изолированном карциноматозе удалось добиться контроля болезни на фоне химиотерапии, при показателях PCI и PSS, которые позволяют ожидать выполнение радикальной циторедуктивной перитонеумэктомии, данный подход следует иметь в виду.

Прогрессирование после проведенной циторедуктивной хирургии, ограниченное поражением только брюшины, также не должно быть противопоказанием к повторной циторедуктивной операции. Так, по результатам ретроспективного исследования Alzahrani с соавторами, среди 231 пациента с повторным удалением метастазов рака толстой кишки по брюшине, медиана безрецидивной выживаемости составила 10,1 месяца, общей выживаемости – 26,4 месяца (при  $PCI \leq 10$  – 30,3 месяцев). Удаление метастазов в объеме CС-0 было выполнено 76,6%. При этом наилучшие результаты лечения были достигнуты в группе пациентов, у которых прошло более 12 месяцев с момента предыдущего хирургического лечения до прогрессирования. Поэтому больных с  $PCI \leq 10$  и безрецидивным интервалом более 12 месяцев возможно рассматривать в качестве кандидатов на повторные циторедуктивные операции [143]. Похожие результаты были получены и в менее крупных ретроспективных работах [144-148].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возможность достижения курабельности пациентов с описанной патологией определило рекомендации заменить термин «перитонеальный карциноматоз» на «метастатическое поражение брюшины», как при метастазах в печени или легких [147]. Оптимальным началом лечения первичного пациента с изолированными метастазами рака толстой кишки по брюшине видится проведение системной терапии, например, режимом FOLFOXIRI с таргетной терапией в зависимости от мутационного статуса и локализации первичной опухоли. В случае достижения контроля болезни, минимум после 8 курсов, необходимо рассмотреть возможность хирургического удаления очагов по брюшине в оптимальном объеме с последующим продолжением адъювантной химиотерапии. Внутриперитонеальная гипертермическая химиоперфузия в данной ситуации при раке толстой кишки оказалась неэффективной опцией. В случае рецидива метастазов по брюшине после циторедуктивной операции повторная хирургия позволяет значительно улучшить результаты лечения параллельно с системной терапией. В случае выявления локального поражения брюшины при удалении первичной опухоли возможно одновременно удалить первичную опухоль и метастазы по брюшине.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: *Федянин М.Ю.*  
Сбор и обработка материала: *Федянин М.Ю.*  
Написание текста: *Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Тюляндин С.А.*  
Редактирование: *Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тер-Ованесов М.Д., Тюляндин С.А.*

## THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Fedyanin M.Yu.*  
Collection and processing of the material: *Fedyanin M.Yu.*  
Writing of the text: *Fedyanin M.Yu., Tryakin A.A., Ter-Ovanesov M.D., Tjulandin S.A.*  
Editing: *Fedyanin M.Yu., Tryakin A.A., Ter-Ovanesov M.D., Tjulandin S.A.*

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Федянин М.Ю. – д.м.н., с.н.с. онкологического отделения лекарственного лечения (химиотерапевтического) №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Доцент кафедры онкологии и гематологии ФНМО РУДН, SPIN-код: 4381-5628.

Трякин А.А. – д.м.н., г.н.с. онкологического отделения лекарственного лечения (химиотерапевтического) №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Заведующий дневным стационаром МКНЦ им.А.С.Логина ДЗ г. Москвы. К+31 Сити. Доцент НИИ онкологии БГМУ. Тер-Ованесов М.Д. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии и гематологии ФНМО РУДН.

Тюляндин С.А. – д.м.н., проф. заведующий онкологическим отделением лекарственного лечения (химиотерапевтическим) №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Fedyanin Mikhail – medical oncologist in oncological department of chemotherapy #2 in Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russian Federation; assistant professor in Peoples' Friendship University of Russia, SPIN-код: 4381-5628.

Tryakin Alexey – medical oncologist in oncological department of chemotherapy #2 in Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation; head of the oncological department in Moscow clinical scientific center, and K+31 City; assistant professor in the Bashkir State Medical University.

Ter-Ovanesov Michael – professor in Peoples' Friendship University of Russia.

Tjulandin Sergei – head of the oncological depart-



## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Riihimäki M, Thomsen H, Sundquist K, et al. Clinical landscape of cancer metastases. *Cancer Med.* 2018 Nov;7(11):5534-5542. doi: 10.1002/cam4.1697
- Chu DZ, Lang NP, Thompson C, et al. Peritoneal carcinomatosis in nongynecologic malignancy. A prospective study of prognostic factors. *Cancer.* 1989; 63(2): 364–367. DOI:10.1002/1097-0142(19890115)63:2<364::aid-cnrcr2820630228>3.0.co;2-v
- Sadeghi B, Arvieux C, Glehen O, et al. Peritoneal carcinomatosis from non-gynecologic malignancies: results of the EVOCAPE 1 multicentric prospective study. *Cancer.* 2000; 88(2): 358–363. DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(20000115)88:2<358::aid-cnrcr16>3.0.co;2-o
- Jayne DG, Fook S, Loi C and Seow-Choen F. Peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *The British Journal of Surgery.* 2002; 89(12): 1545–1550. DOI:10.1046/j.1365-2168.2002.02274.x
- Franco J, Shi Q, Meyers JP, et al. Prognosis of patients with peritoneal metastatic colorectal cancer given systemic therapy: an analysis of individual patient data from prospective randomised trials from the Analysis and Research in Cancers of the Digestive System (ARCAD) database. *Lancet Oncol.* 2016 Dec;17(12):1709-1719. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30500-9
- Hugen N, van de Velde CJ, de Wilt JH, Nagtegaal ID. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol.* 2014 Mar;25(3):651-7. doi: 10.1093/annonc/mdt591
- Tran B, Kopetz S, Tie J, et al. Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer. *Cancer.* 2011 Oct 15;117(20):4623-32.
- Morris V, Overman MJ, Jiang ZQ, et al. Progression-free survival remains poor over sequential lines of systemic therapy in patients with BRAF-mutated colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2014 Sep;13(3):164-71. doi: 10.1016/j.clcc.2014.06.001
- Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015 Nov; 21(11): 1350–6. doi: 10.1038/nm.3967
- Ubink I, van Eden WJ, Snaebjornsson P et al. Histopathological and molecular classification of colorectal cancer and corresponding peritoneal metastases. *BJS.* 2018; 105: e204–e211. doi: 10.1002/bjs.10788
- Yao Q, Qu X, Yang Q, Wei M, Kong B. CLIC4 mediates TGF-beta1-induced fibroblast-to-myofibroblast transdifferentiation in ovarian cancer. *Oncol Rep.* 2009;22:541–548. DOI:10.3892/or\_00000469
- Neumann J, Löhns L, Albertsmeier M, et al. Cancer Stem Cell Markers Are Associated With Distant Hematogenous Liver Metastases But Not With Peritoneal Carcinomatosis in Colorectal Cancer. *Cancer Invest.* 2015;33(8):354-60. <https://doi.org/10.3109/07357907.2015.1047507>
- Shelygin Yu.A., Pospekhova N.I., Shubin V.P., et al. Epithelial-Mesenchymal Transition and Somatic Alteration in Colorectal Cancer with and without Peritoneal Carcinomatosis. *Biomed Res Int.* 2014;6:29496. doi:10.1155/2014/629496
- Heublein S, Albertsmeier M, Pfeifer D, et al. Association of differential miRNA expression with hepatic vs. peritoneal metastatic spread in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2018 ;18(1): 1–10, doi: 10.1186/s12885-018-4043-0
- Lemoine L, Sugarbaker P and Van Der Speeten K. Pathophysiology of colorectal peritoneal carcinomatosis: role of the peritoneum. *World Journal of Gastroenterology.* 2016; 22(34): 7692–7707. doi: 10.3748/wjg.v22.i34.7692
- Zebrowski BK, Liu W, Ramirez K, et al. Markedly elevated levels of vascular endothelial growth factor in malignant ascites. *Ann Surg Oncol.* 1999 Jun;6(4):373-8. <https://doi.org/10.1007/s10434-999-0373-0>
- Chia CS, Glehen O, Bakrin N, et al. Intraperitoneal vascular endothelial growth factor: a prognostic factor and the potential for intraperitoneal bevacizumab use in peritoneal surface malignancies. *Annals of Surgical Oncology.* 2015;22, Supplement 3, pp. 880–887. doi: 10.1245/s10434-015-4644-7
- Mikuła-Pietrasik J, Uruski P, Tykarski A, and Ksiazek K. The peritoneal “soil” for a cancerous “seed”: a comprehensive review of the pathogenesis of intraperitoneal cancer metastases. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2018; 75(3): 509–525. doi: 10.1007/s00018-017-2663-1
- Marcuello M, Mayol X, Felipe-Fumero E, et al. Modulation of the colon cancer cell phenotype by pro-inflammatory macrophages: a preclinical model of surgery associated inflammation and tumor recurrence. *PLoS One.* 2018; 13(2), Article ID e0192958. doi: 10.1371/journal.pone.0192958
- Kojima M, Higuchi Y, Yokota M, et al. Human subperitoneal fibroblast and cancer cell interaction creates microenvironment that enhances tumor progression and metastasis. *PLoS One.* 2014; 9(2), Article ID e88018. DOI: 10.1371/journal.pone.0088018
- Kitayama J, Emoto S, Yamaguchi H, et al. CD90(+) mesothelial-like cells in peritoneal fluid promote peritoneal metastasis by forming a tumor permissive microenvironment. *PLoS One.* 2014; 9(1), Article ID e86516. doi: 10.1371/journal.pone.0086516
- Zhang Y, Nowicka A, Solley TN, et al. Stromal cells derived from visceral and obese adipose tissue promote growth of ovarian cancers. *PLoS One.* 2015; 10(8), Article ID e0136361. doi: 10.1371/journal.pone.0136361
- Sluiter N, de Cuba E, Kwakman R, et al. Adhesion molecules in peritoneal dissemination: function, prognostic relevance and therapeutic options. *Clinical and Experimental Metastasis.* 2016; 33(5): 401–416. doi: 10.1007/s10585-016-9791-0
- Pretzsch E, Bösch F, Neumann J, et al. Mechanisms of metastasis in colorectal cancer and metastatic organotropism: hematogenous versus peritoneal spread. *J Oncol.* 2019 Sep 19;2019:7407190. doi: 10.1155/2019/7407190
- De Cuba EMV, Kwakman R, Van Egmond M et al. Understanding molecular mechanisms in peritoneal dissemination of colorectal cancer. *Virchows Archiv.* 2012; 461(3): 231–243. doi: 10.1007/s00428-012-1287-y.
- Lambert AW, Pattabiraman DR and Weinberg RA. Emerging biological principles of metastasis. *Cell.* 2017; vol. 168, no. 4, pp 670–691. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.037
- Sakamoto M, Takamura M, Ino Y, et al. Involvement of c-src in carcinoma cell motility and metastasis. *Japanese Journal of Cancer Research.* 2001; 92(9): 941–946. doi: 10.1111/j.1349-7006.2001.tb01184.x
- Meyers MA. Distribution of intra-abdominal malignant seeding: dependency on dynamics of flow of ascitic fluid. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med.* 1973; 119: 198-206. DOI:10.2214/ajr.119.1.198
- Sugarbaker PH. Observations concerning cancer spread within the peritoneal cavity and concepts supporting an ordered pathophysiology. *Cancer Treat Res.* 1996; 82: 79-100. doi: 10.1007/978-1-4613-1247-5\_6
- Heath RM, Jayne DG, O’Leary R, et al. Tumour-induced apoptosis in human mesothelial cells: a mechanism of peritoneal invasion by

- Fas Ligand/Fas interaction. *Br J Cancer*. 2004; 90: 1437-1442. doi: 10.1038/sj.bjc.6601635
31. Warn R, Harvey P, Warn A, et al. HGF/SF induces mesothelial cell migration and proliferation by autocrine and paracrine pathways. *Exp Cell Res*. 2001; 267: 258-266. DOI: 10.1006/excr.2001.5240
  32. Koumpa FS, Xylas D, Konopka M, et al. Colorectal peritoneal metastases: a systematic review of current and emerging trends in clinical and translational research. *Gastroenterol Res Pract*. 2019 Apr 1;2019:5180895. <https://doi.org/10.1155/2019/5180895>
  33. Koh JL, Yan TD, Glenn D and Morris DL. Evaluation of preoperative computed tomography in estimating peritoneal cancer index in colorectal peritoneal carcinomatosis. *Annals of Surgical Oncology*. 2009; 16(2): 327-333. <https://doi.org/10.1245/s10434-008-0234-2>
  34. Marin D, Catalano C, Baski M, et al. 64-Section multidetector row CT in the preoperative diagnosis of peritoneal carcinomatosis: correlation with histopathological findings. *Abdominal Imaging*. 2010; 35(6): 694-700. doi: 10.1007/s00261-008-9464-9
  35. Duhr CD, Kenn W, Kickuth R, et al. Optimizing of preoperative computed tomography for diagnosis in patients with peritoneal carcinomatosis. *World Journal of Surgical Oncology*. 2011; 9(1): 171. doi: 10.1186/1477-7819-9-171
  36. Esquivel J, Chua TC, Stojadinovic A, et al. Accuracy and clinical relevance of computed tomography scan interpretation of peritoneal cancer index in colorectal cancer peritoneal carcinomatosis: a multi-institutional study. *Journal of Surgical Oncology*. 2010; 102(6): 565-570. doi: 10.1002/jso.21601
  37. Flicek K, Ashfaq A, Johnson CD, et al. Correlation of radiologic with surgical peritoneal cancer index scores in patients with Pseudomyxoma Peritonei and peritoneal carcinomatosis: how well can we predict resectability? *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2016; 20(2): 307-312. doi: 10.1007/s11605-015-2880-6
  38. Franlet T, Diederichs G, Engelken F, et al. Multi-detector CT in peritoneal carcinomatosis: diagnostic role of thin slices and multiplanar reconstructions. *Abdominal Imaging*. 2009; 34(1): 49-54. doi: 10.1007/s00261-008-9372-z.
  39. Laghi A, Bellini D, Rengo M, et al. Diagnostic performance of computed tomography and magnetic resonance imaging for detecting peritoneal metastases: systematic review and meta-analysis. *La Radiologia Medica*. 2017; 122(1): 1-15. doi: 10.1007/s11547-016-0682-x
  40. Liberale G, Lecocq C, Garcia C, et al. Accuracy of FDGPET/CT in colorectal peritoneal carcinomatosis: potential tool for evaluation of chemotherapeutic response. *Anticancer Research*. 2017;37(2): 929-934. DOI:10.21873/anticancer.11401
  41. Pasqual EM, Bertozzi S, Bacchetti S, et al. Preoperative assessment of peritoneal carcinomatosis in patients undergoing hyperthermic intraperitoneal chemotherapy following cytoreductive surgery. *Anticancer Research*. 2014; 34(5): 2363-2368.
  42. Dromain C, Leboulloux S, Auperin A, et al. Staging of peritoneal carcinomatosis: enhanced CT vs. PET/CT. *Abdominal Imaging*. 2008; 33(1): 87-93. doi: 10.1007/s00261-007-9211-7
  43. Bamba Y, Itabashi M, and Kameoka S. Clinical use of PET/CT in peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Hepato-Gastroenterology*. 2012; 59(117):1408-1411. doi: 10.5754/hge11640
  44. Choi EK, Yoo IR, Park HL, et al. Value of surveillance 18F-FDG PET/CT in colorectal cancer: comparison with conventional imaging studies. *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2012; 46(3):189-195. doi: 10.1007/s13139-012-0145-9
  45. Brendle C, Schwenzer NF, Rempp H, et al. Assessment of metastatic colorectal cancer with hybrid imaging: comparison of reading performance using different combinations of anatomical and functional imaging techniques in PET/MRI and PET/CT in a short case series. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2016; 43(1): 123-132. doi: 10.1007/s00259-015-3137-z
  46. Satoh Y, Ichikawa T, Motosugi U, et al. Diagnosis of peritoneal dissemination: comparison of 18F-FDG PET/CT, diffusion-weighted MRI, and contrast-enhanced MDCT. *American Journal of Roentgenology*. 2011; 196(2): 447-453. doi: 10.2214/AJR.10.4687
  47. Dohan A, Hoeffel C, Soyer P, et al. Evaluation of the peritoneal carcinomatosis index with CT and MRI. *The British Journal of Surgery*. 2017; 104(9): 1244-1249. doi: 10.1002/bjs.10527
  48. Huang CJ, Jiang JK, Chang SC, et al. Yang. Serum CA125 concentration as a predictor of peritoneal dissemination of colorectal cancer in men and women. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(47): e5177. doi: 10.1097/MD.0000000000005177
  49. Thomassen I, van Gestel YRBM, Aalbers AGJ, et al. Peritoneal carcinomatosis is less frequently diagnosed during laparoscopic surgery compared to open surgery in patients with colorectal cancer. *European Journal of Surgical Oncology*. 2014; 40(5): 511-514. doi: 10.1016/j.ejso.2014.01.013
  50. Najah H, Lo Dico R, Dohan A, et al. A feasibility study of the use of computed virtual chromoendoscopy for laparoscopic evaluation of peritoneal metastases. *Surgical Endoscopy*. 2017; 31(2): 743-751. doi: 10.1007/s00464-016-5028-1
  51. Barabino G, Klein JP, Porcheron J, et al. Intraoperative near-infrared fluorescence imaging using indocyanine green in colorectal carcinomatosis surgery: proof of concept. *European Journal of Surgical Oncology*. 2016; 42(12): 1931-1937. doi: 10.1016/j.ejso.2016.06.389
  52. Lieto E, Auricchio A, Cardella F, et al. Fluorescence-guided surgery in the combined treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: preliminary results and considerations. *World Journal of Surgery*. 2018; 42(4): 1154-1160. doi: 10.1007/s00268-017-4237-7
  53. Liberale G, Vankerckhove S, Caldon MG, et al. Fluorescence imaging after indocyanine green injection for detection of peritoneal metastases in patients undergoing cytoreductive surgery for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a pilot study. *Annals of Surgery*. 2016; 264(6): 1110-1115. doi: 10.1097/SLA.0000000000001618
  54. Harlaar NJ, Koller M, de Jongh SJ, et al. Molecular fluorescence-guided surgery of peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: a single-centre feasibility study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2016; 1(4): 283-290. doi: 10.1016/S2468-1253(16)30082-6
  55. Taylor F, Mangat N, Swift IR, and Brown G. Proforma based reporting in rectal cancer. *Cancer Imaging*. 2010; 10(1A): S142-S150. doi: 10.1102/1470-7330.2010.9092
  56. Chandramohan A, Thrower A, Smith SA, et al. 'PAUSE': a method for communicating radiological extent of peritoneal malignancy. *Clinical Radiology*. 2017; 72(11): 972-980. doi: 10.1016/j.crad.2017.07.005
  57. Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. *Jpn J Surg*. 1981;11(2):127-39. doi: 10.1007/BF02468883
  58. Gilly FN, Carry PY, Sayag AC, et al. Regional chemotherapy (with mitomycin C) and intra-operative hyperthermia for digestive cancers with peritoneal carcinomatosis. *Hepatogastroenterology*. 1994;41(2):124-9.
  59. Jacquet P, Sugarbaker PH. Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis. *Cancer Treat Res*. 1996;82:359-374. doi: 10.1007/978-1-4613-1247-5\_23
  60. Witkamp AJ, de Bree E, Kaag MM, et al. Extensive cytoreductive surgery followed by intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with mitomycin-C in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Eur J Cancer*. 2013;37(8):979-84. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(01\)00058-2](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(01)00058-2)
  61. Franko J, Shi Q, Goldman CD, et al. Treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis with systemic chemotherapy: a pooled analysis of north central cancer treatment group phase III trials N9741 and N9841. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 263-267. doi: 10.1200/JCO.2011.37.1039

62. Passot G, You B, Boschetti G, et al. Pathological response to neoadjuvant chemotherapy: a new prognosis tool for the curative management of peritoneal colorectal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol*. 2014 Aug;21(8):2608-14. doi: 10.1245/s10434-014-3647-0
63. Blazer DG 3rd, Kishi Y, Maru DM, et al. Pathologic response to preoperative chemotherapy: a new outcome end point after resection of hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol*. 2008;26(33):5344-51. doi: 10.1200/JCO.2008.17.5299
64. Kohne CH, Cunningham D, Di Costanzo F, et al. Clinical determinants of survival in patients with 5-fluorouracil-based treatment for metastatic colorectal cancer: results of a multivariate analysis of 3825 patients. *Ann Oncol*. 2002;13(2):308-17. doi: 10.1093/annonc/mdf034
65. Chua TC, Morris DL, Saxena A, et al. Influence of modern systemic therapies as adjunct to cytoreduction and perioperative intraperitoneal chemotherapy for patients with colorectal peritoneal carcinomatosis: a multicenter study. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(6):1560-7. doi: 10.1245/s10434-010-1522-1
66. Go PH, Klaassen Z, Meadows MC, Chamberlain RS. Gastrointestinal cancer and brain metastasis: a rare and ominous sign. *Cancer*. 2011; 117: 3630-3640. doi: 10.1002/cncr.25940
67. Lemmens VE, Klaver YL, Verwaal VJ, et al. Predictors and survival of synchronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: a population-based study. *Int J Cancer*. 2011; 128: 2717-2725. doi: 10.1002/ijc.25596
68. Marques RP, Duarte GS, Sterrantino C, et al. Triplet (FOLFOXIRI) versus doublet (FOLFOX or FOLFIRI) backbone chemotherapy as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017 Oct;118:54-62. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.08.006
69. Cremolini C, Antoniotti C, Lonardi S, et al. Primary tumor sidedness and benefit from FOLFOXIRI plus bevacizumab as initial therapy for metastatic colorectal cancer. Retrospective analysis of the TRIBE trial by GONO. *Ann Oncol*. 2018 Jul;29(7):1528-1534. doi: 10.1093/annonc/mdy140
70. Hurwitz HI, Tan BR, Reeves JA, et al. Phase II Randomized Trial of Sequential or Concurrent FOLFOXIRI-Bevacizumab Versus FOLFOX-Bevacizumab for Metastatic Colorectal Cancer (STEAM). *Oncologist*. 2019 Jul;24(7):921-932. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0344
71. Schmoll H-J, Meinert FM, Cygon F, et al. "CHARTA": FOLFOX/bevacizumab vs FOLFOXIRI/bevacizumab in advanced colorectal cancer - Final results, prognostic and potentially predictive factors from the randomized phase II trial of the AIO. *Journal of Clinical Oncology*. 2017 suppl (May 20), 35(15): 3533-3533. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15\_suppl.3533
72. Sastre J, Vieitez JM, Gomez-España MA, et al. Randomized phase III study comparing FOLFOX + bevacizumab versus folfoxiri + bevacizumab (BEV) as 1stline treatment in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with ≥3 baseline circulating tumor cells (bCTCs). *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(15) suppl:3507-3507. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15\_suppl.3507
73. Birnleitner H, Sachet M, Bachleitner-Hofmann T, Oehler R. Immunogenic effects of FOLFOXIRI plus Bevacizumab therapy in colorectal peritoneal carcinomatosis. The 6th Leading International Cancer Immunotherapy Conference in Europe. *European Journal of Cancer*. 2019;110:S1eS34. doi.org/10.1016/j.ejca.2019.01.039
74. Федянин М.Ю., Гладков О.А., Гордеев С.С., Рыков И.В., Трякин А.А. и соавт. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака ободочной кишки и ректосигмоидного соединения. Злокачественные опухоли: *Практические рекомендации RUSSCO*. #3s2, 2019; т. 9, с.324–364. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s2-324-364
- [Fedyanin M, Gladkov O., Gordeev S, et al. Practical recommendations for the treatment of colorectal and rectosigmoid cancer. *Malignant Tumors: Practical Guidelines for RUSSCO*. #3s2, 2019; vol. 9, pp.324–364. (in Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s2-324-364]
75. Modest DP, Martens UM, Riera-Knorrenschild J, et al. FOLFOXIRI Plus Panitumumab As First-Line Treatment of RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: The Randomized, Open-Label, Phase II VOLFI Study (AIO KRK0109). *J Clin Oncol*. 2019 Dec 10;37(35):3401-3411. doi: 10.1200/JCO.19.01340
76. Huabin Hu, Kun Wang, Wei Wang, et al. FOLFOXIRI with or without cetuximab as conversion therapy in patients with RAS/BRAF wild-type unresectable liver metastases colorectal cancer: The FOCULM study. *Journal of Clinical Oncology*. 2020 38(4):suppl:99-99. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.4\_suppl.99
77. Lopez-Crapez E, Adenis A, Thezenas S, et al. FOLFIRINOX plus cetuximab (CET) or bevacizumab (BEV) in patients (pts) with initially unresectable colorectal liver metastases (CRLM) with BRAF mutated (mut) tumors: A subgroup analysis of the UNICANCER PRODIGE 14-ACCORD 21 (METHEP2) trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36(15):suppl:3548-354. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.15\_suppl.354
78. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, et al. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. *J Clin Oncol*. 2007;25:3456–3461
79. Ychou M, Raoul JL, Douillard JY, et al. A phase III randomised trial of LV5FU2 + irinotecan versus LV5FU2 alone in adjuvant high-risk colon cancer (FNCLCC Accord02/FFCD9802). *Ann Oncol*. 2009;20:674–680. doi: 10.1200/JCO.2007.11.2144
80. van Cutsem E, Labianca R, Bodoky G, et al. Randomized phase III trial comparing biweekly infusional fluorouracil/leucovorin alone or with irinotecan in the adjuvant treatment of stage III colon cancer PETACC-3. *J Clin Oncol*. 2009;27:3117–3125. doi: 10.1200/JCO.2008.21.6663
81. Ychou M, Hohenberger W, Thezenas S, Navarro M, Maurel J, Bokemeyer C, Shacham-Shmueli E, Rivera F, Kwok-Keung Choi C, Santoro A. A randomized phase III study comparing adjuvant 5-fluorouracil/folinic acid with FOLFIRI in patients following complete resection of liver metastases from colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2009;20:1964–1970. doi: 10.1093/annonc/mdp236.
82. Bridgewater JA, Pugh SA, Maishman T, et al. Systemic chemotherapy with or without cetuximab in patients with resectable colorectal liver metastasis (New EPOC): long-term results of a multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2020 Mar;21(3):398-411. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30798-3.
83. Alberts SR, Sargent DJ, Smyrk TC, et al. Adjuvant mFOLFOX6 with or without Cetuximab (Cmab) in KRAS wild-type (WT) patients (pts) with resected stage II colon cancer (CC): result from NCCTG Intergroup Phase III Trial N0147. *J Clin Oncol*. 2010;28(18):959
84. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, et al. Phase III trial assessing bevacizumab in stages II and III carcinoma of the colon: results of NSABP protocol C-08. *J Clin Oncol*. 2011;29:11–16. doi: 10.1200/JCO.2010.30.0855
85. de Gramont A, van Cutsem E, Schmoll HJ, et al. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2012;13:1225–1233. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70509-0
86. Lumachi F, Chiara GB, Tozzoli R, et al. Factors Affecting Survival in Patients with Lung Metastases from Colorectal Cancer. A Short Meta-analysis. *Anticancer Res*. 2016 Jan;36(1):13-9
87. Kanas GP, Taylor A, Primrose JN, et al. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: review and meta-analysis of prognostic factors. *Clin Epidemiol*. 2012;4:283-301. doi: 10.2147/CLEP.S34285
88. Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Ann Surg*. 1995;221(1):29-42. doi: 10.1097/0000658-199501000-00004
89. Portilla AG, Shigeki K, Dario B, Marcello D. The intraoperative staging systems in the management of peritoneal surface malignancy. *J Surg Oncol*. 2008;98(4):228-231. doi: 10.1002/jso.21068
90. Dromain C, Caramella C, Dartigues P, et al. Liver, lung and peritoneal metastases in colorectal cancers: is the patient still



- curable? What should the radiologist know. *Diagn Interv Imaging*. 2014 May;95(5):513-23. doi: 10.1016/j.diii.2014.03.011
91. Wademan M, Ha J, Singh H, et al. Current indications, techniques and results of cytoreductive surgery with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for intra-abdominal malignancies. *Surgery Curr Res*. 2012; 2:4. DOI: 10.4172/2161-1076.1000125
92. Sugarbaker PH. Prevention and Treatment of Peritoneal Metastases: a Comprehensive Review. *Indian J Surg Oncol*. 2019 Mar;10(1):3-23. doi: 10.1007/s13193-018-0856-1
93. Ceelen WP, Flessner MF. Intraperitoneal therapy for peritoneal tumors: biophysics and clinical evidence. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010; 7: 108-115. DOI:10.1038/nrclinonc.2009.217
94. Karnofsky DA, Abelmann WH, Craver LF et al. The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. *Cancer*. 1948;40:634-656
95. Weisberger AS, Levine B, Storaasli JP. Use of nitrogen mustard in treatment of serous effusions of neoplastic origin. *J Am Med Assoc*. 1955;159:1704-1707. doi: 10.1001/jama.1955.02960350004002
96. Cavaliere R, Ciocatto EC, Giovanella BC, Heidelberger C, Johnson RO, et al. Selective heat sensitivity of cancer cells. Biochemical and clinical studies. *Cancer*. 1967;20:1351-1381. doi: 10.1002/1097-0142(196709)20:9<1351::aid-cnrcr2820200902>3.0.co;2-#
97. Sticca RP, Dach BW. Rationale for hyperthermia with intraoperative intraperitoneal chemotherapy agents. *Surg Oncol Clin N Am*. 2003;12:689-701. doi: 10.1016/s1055-3207(03)00029-2
98. Jones RB, Myers CE, Guarino AM et al. High volume intraperitoneal chemotherapy ("belly bath") for ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1978;1:161-166. doi: 10.1007/BF00253116
99. Cunliffe WJ, Sugarbaker PH. Gastrointestinal malignancy: rationale for adjuvant therapy using early postoperative intraperitoneal chemotherapy (EPIC). *Br J Surg*. 1989;76:1082-1090. doi: 10.1002/bjs.1800761030
100. So JBY, Ji J, Han SU, et al. Extensive peritoneal lavage after curative gastrectomy for gastric cancer study (EXPEL): An international multicenter randomized controlled trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(4):suppl:279-279. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.4\_suppl.279
101. Emoto S, Sunami E, Yamaguchi H, et al. Drug development for intraperitoneal chemotherapy against peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer. *SurgToday*. 2014;44: 2209-2220. doi: 10.1007/s00595-014-0848-x
102. Aoyagi T, Terracina KP, Raza A, Takabe K. Current treatment options for colon cancer peritoneal carcinomatosis. *World J Gastroenterol*. 2014 September 21; 20(35):12493-12500. doi: 10.3748/wjg.v20.i35.12493
103. Halkia E, Tsochrinis A, Vassiliadou DT, et al. Peritoneal carcinomatosis: intraoperative parameters in open (coliseum) versus closed abdomen HIPEC. *International Journal of Surgical Oncology*. 2015, Article ID 610597, 6 pages. <https://doi.org/10.1155/2015/610597>
104. Silva CR, F. Ruiz JM, and Estévez IB. Are there intra-operative hemodynamic differences between the Coliseum and closed HIPEC techniques in the treatment of peritoneal metastasis? A retrospective cohort study. *World Journal of Surgical Oncology*. 2017; 15(1): 51. doi: 10.1186/s12957-017-1119-2.
105. Spiliotis, A. Rogdakis, A. Vaxevanidou, A. Datsis, et al. Morbidity and mortality of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the management of peritoneal carcinomatosis. *Journal of B.U.ON*. 2009; 14(2): 259-264.
106. Gupta N, Asif S, Gandhi J, et al. Role of CRS and HIPEC in appendiceal and colorectal malignancies: Indian experience. *Indian Journal of Gastroenterology*. 2017; 36(2): 126-130. doi: 10.1007/s12664-017-0747-3
107. Facy O, Combier C, Poussier M, et al. High pressure does not counterbalance the advantages of open techniques over closed techniques during heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin. *Surgery*. 2015; 157(1): 72-78. doi: 10.1016/j.surg.2014.06.006
108. Elias D, Gilly F, Boutitie F, et al. Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: retrospective analysis of 523 patients from a multicentric French study. *J Clin Oncol*. 2010; 28:63-68. doi: 10.1200/JCO.2009.23.9285
109. Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH, et al. Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multiinstitutional study. *J Clin Oncol*. 2004; 22: 3284-3292. doi: 10.1200/JCO.2004.10.012
110. Verwaal VJ, Bruin S, Boot H, et al. 8-year follow-up of randomized trial: cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2008; 15:2426-2432. doi: 10.1245/s10434-008-9966-2
111. Wu W, Yan S, Liao H, et al. Curative versus palliative treatments for colorectal cancer with peritoneal carcinomatosis: a systemic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(68):113202-113212. doi: 10.18632/oncotarget.21912
112. Kanemitsu Y, Shitara K, Mizusawa J, et al. A randomized phase III trial comparing primary tumor resection plus chemotherapy with chemotherapy alone in incurable stage IV colorectal cancer: JCOG1007 study (iPACS). *J Clin Oncol*. 2020;38 (suppl 4; abstr 7). doi: 10.1093/jco/hyz173
113. Vaillant JC, Nordlinger B, Deuffic S, et al. Adjuvant intraperitoneal 5-fluorouracil in high-risk colon cancer: A multicenter phase III trial. *Ann Surg*. 2000; 231: 449-456. doi: 10.1097/0000658-200004000-00001
114. Nordlinger B, Rougier P, Arnaud JP, et al. Adjuvant regional chemotherapy and systemic chemotherapy versus systemic chemotherapy alone in patients with stage II-III colorectal cancer: a multicenter randomized controlled phase III trial. *Lancet Oncol*. 2005; 6: 459-468. doi: 10.1016/S1470-2045(05)70222-9
115. Quenet F, Goere D, Mehta SS, et al. Results of two bi-institutional prospective studies using intraperitoneal oxaliplatin with or without irinotecan during HIPEC after cytoreductive surgery for colorectal carcinomatosis. *Ann Surg*. 2011;254: 294-301. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182263933
116. Prada-Villaverde A, Esquivel J, Lowy AM, et al. The American Society of Peritoneal Surface Malignancies evaluation of HIPEC with mitomycin C versus oxaliplatin in 539 patients with colon cancer undergoing a complete cytoreductive surgery. *J Surg Oncol*. 2014;110:779-785. doi: 10.1002/jso.23728
117. Song N, Pogue-Geile KL, Gavin PG, et al. Clinical Outcome From Oxaliplatin Treatment in Stage II/III Colon Cancer According to Intrinsic Subtypes: Secondary Analysis of NSABP C-07/NRG Oncology Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2016 Sep 1;2(9):1162-9. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.2314
118. Leung V, Huo YR, Liauw W, Morris DL. Oxaliplatin versus mitomycin C for HIPEC in colorectal cancer peritoneal carcinomatosis. *Eur J Surg Oncol*. 2017;43:144-149. doi: 10.1016/j.ejso.2016.09.015
119. Wisselink DD, Braakhuis LLF, Gallo G, et al. Systemic review of published literature on oxaliplatin and mitomycin C as chemotherapeutic agents for hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with peritoneal metastases from colorectal cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2019 Oct;142:119-129. doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.06.014
120. Sipok A, Sardi A, Nieroda C, et al. Comparison of survival in patients with isolated peritoneal canceromatosis from colorectal cancer treated with cytoreduction and Melphalan or Mitomycin-C as hyperthermic intraperitoneal chemotherapy agent. *Int J of Surg Oncol*. 2018 articleID 1920276. doi: 10.1155/2018/1920276
121. Ihemelandu C, Sugarbaker PH. Management for Peritoneal Metastasis of Colonic Origin: Role of Cytoreductive Surgery and Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy: A Single Institution's

- Experience During Two Decades. *Ann Surg Oncol*. 2017 Apr;24(4):898-905. doi: 10.1245/s10434-016-5698-x
122. Quenet F, Elias D, Roca L, et al. A UNICANCER phase III trial of hyperthermic intra-peritoneal chemotherapy (HIPEC) for colorectal peritoneal carcinomatosis (PC): PRODIGE 7. *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36, no. 18\_suppl. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.18\_suppl.LBA3503
123. Klaver CEL, Wisselink DD, Punt CJA, et al. Adjuvant HIPEC in patients with colon cancer at high risk of peritoneal metastases: Primary outcome of the COLOPEC multicenter randomized trial. *J Clin Oncol*. 2019;37 (suppl 4; abstr 482). DOI: 10.1200/JCO.2019.37.4\_suppl.482
124. Goere D, Glehen O, Quenet F, et al. Results of a randomized phase 3 study evaluating the potential benefit of a second-look surgery plus HIPEC in patients at high risk of developing colorectal peritoneal metastases (PROPHYLOCHIP- NTC01226394). *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36, no. 15\_suppl:3531-3531. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.15\_suppl.3531
125. Elias D, Delpero JR, Sideris L, et al. Treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: impact of complete cytoreductive surgery and difficulties in conducting randomized trials. *Ann Surg Oncol*. 2004; 11: 518-521. doi: 10.1245/ASO.2004.09.008
126. Mahteme H, Hansson J, Berglund A, et al. Improved survival in patients with peritoneal metastases from colorectal cancer: a preliminary study. *Br J Cancer*. 2004; 90: 403-407. doi: 10.1038/sj.bjc.6601586
127. Yan TD, Black D, Savady R, Sugarbaker PH. Systematic review on the efficacy of cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis from colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 4011-4019. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.1142
128. McConnell YJ, Mack LA, Francis WP, et al. HIPEC + EPIC versus HIPEC-alone: differences in major complications following cytoreduction surgery for peritoneal malignancy. *J Surg Oncol*. 2013;107:591–596. doi: 10.1002/jso.23276
129. Khosrawipour V, Khosrawipour T, Kern AJP, et al. Distribution pattern and penetration depth of doxorubicin after pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) in a postmortem swine model. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2016;142(11): 2275–2280. doi: 10.1007/s00432-016-2234-0
130. Robella M, Vaira M, and De Simone M. Safety and feasibility of pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) associated with systemic chemotherapy: an Gastroenterology Research and Practice innovative approach to treat peritoneal carcinomatosis. *World Journal of Surgical Oncology*. 2016; 14:p.128. doi: 10.1186/s12957-016-0892-7
131. Tempfer CB, Solass W, Buerkle B, Reymond MA. Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) with cisplatin and doxorubicin in a woman with pseudomyxoma peritonei: A case report. *Gynecol Oncol Rep*. 2014;10:32–5. doi: 10.1016/j.gore.2014.10.001
132. Alyami M, Gagniere J, Sgarbura O, et al. Multicentric initial experience with the use of the pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) in the management of unresectable peritoneal carcinomatosis. *European Journal of Surgical Oncology*. 2017; vol. 43, no. 11, pp. 2178–2183. doi: 10.1016/j.ejso.2017.09.010
133. Demtröder C, Solass W, Zieren J, et al. Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy with oxaliplatin in colorectal peritoneal metastasis. *Colorectal Disease*. 2016; 18(4): 364–371. doi: 10.1111/codi.13130
134. Kakchekeeva T, Demtroder C, Herath NI, et al. In vivo feasibility of electrostatic precipitation as an adjunct to Pressurized Intraperitoneal Aerosol Chemotherapy (ePIPAC). *Ann Surg Oncol*. 2016;23:5592–8. doi: 10.1245/s10434-016-5108-4
135. Sugarbaker PH. Normothermic intraperitoneal chemotherapy long term (NIPEC-LT) in the management of peritoneal surface malignancy, an overview. *Pleura and Peritoneum*. 2017;2:85–93. doi: 10.1515/pp-2017-0012
136. Ishigami H, Fujiwara Y, Fukushima R, et al. Phase III Trial Comparing Intraperitoneal and Intravenous Paclitaxel Plus S-1 Versus Cisplatin Plus S-1 in Patients With Gastric Cancer With Peritoneal Metastasis: PHOENIX-GC Trial. *J Clin Oncol*. 2018 Jul 1;36(19):1922-1929. doi: 10.1200/JCO.2018.77.8613
137. Armstrong DK, Walker JL. Role of Intraperitoneal therapy in the initial management of ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2019 Sep 20;37(27):2416-2419. DOI: 10.1200/JCO.19.00671
138. Braam HJ, Boerma D, Wiezer MJ, Ramshorst V. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy during primary tumour resection limits extent of bowel resection compared to two-stage treatment. *Eur J Surg Oncol*. 2013;39:988–993. doi: 10.1016/j.ejso.2013.06.002
139. Froysnes I, Larsen S, Spasojevic M, et al. Complete cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for colorectal peritoneal metastasis in Norway: prognostic factors and oncologic outcome in a national patient cohort. *J Surg Oncol*. 2016 Aug;114(2):222-7. doi: 10.1002/jso.24290
140. Faron M, Macovei R, Goere D, et al. Linear relationship of peritoneal cancer index and survival in patients with peritoneal metastases from colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:114–9. doi: 10.1245/s10434-015-4627-8
141. Paul BK, Ihemelandu C, Sugarbaker PH. Prior surgical score: an analysis of the prognostic significance of an initial nondefinitive surgical intervention in patients with peritoneal carcinomatosis of a colorectal origin undergoing cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy. *Dis Colon Rectum*. 2018 Mar;61(3):347-354. doi: 10.1097/DCR.0000000000001003
142. Bachet JB, Moreno-Lopez N, Vigano L, et al. BRAF mutation is not associated with an increased risk of recurrence in patients undergoing resection of colorectal liver metastases. *Br J Surg*. 2019 Aug;106(9):1237-1247. doi: 10.1002/bjs.11180
143. Alzahrani NA, Valle SJ, Fisher OM, et al. Iterative cytoreductive surgery with or without hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for colorectal peritoneal metastases: A multi-institutional experience. *J Surg Oncol*. 2018;1-11. doi: 10.1002/jso.25277.
144. Braam HJ, van Oudheusden TR, de Hingh IHJT, et al. Patterns of recurrence following complete cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2014; 109:841-847. doi: 10.1002/jso.23597
145. Piso P, Stierstorfer K, Gerken M, Klinkhammer-Schalke M. Benefit of cytoreductive surgery combined with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with isolated peritoneal metastases from colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2018;33 (11):1559-1567. doi: 10.1007/s00384-018-3146-z
146. van Eden WJ, Elekonawo FMK, Starremans BJ, et al. Treatment of isolated peritoneal recurrences in patients with colorectal peritoneal metastases previously treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Ann Surg Oncol*. 2018;25:1992-2001. doi: 10.1245/s10434-018-6423-8
147. Sugarbaker PH. Pharmacology of chemotherapy treatments for peritoneal metastases: optimizing and augmenting HIPEC. *Pleura Peritoneum*. 2017 Jun 1; 2(2): 43–45. doi: 10.1515/pp-2017-0011
148. Тер-Ованесов М.Д., Буйденко Ю.В., Полоцкий Б.Е. и соавт. Гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия (ГИИХ - HIPEC) в комбинированном лечении местнораспространенного и интраперитонеально диссеминированного рака желудка и других форм опухолей. Российская Онкологическая Конференция, Ноябрь, 2007г. [Ter-Ovanesov MD, Budeinok UV, Polockii BE, et al. Intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion (HIPEC) in the combined treatment of locally advanced and intraperitoneally disseminated gastric cancer and other forms of tumors. Russian oncological congress. 2007 (in Russ.)]



# ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИЕ РЕЗЕКЦИИ С ТРАНСАНАЛЬНЫМ УДАЛЕНИЕМ ПРЕПАРАТА В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ (систематический обзор литературы и метаанализ)

Чернышов С.В., Сычев С.И., Пономаренко А.А., Рыбаков Е.Г.

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России  
(ул. Саляма Адилы, д.2, 123423, Москва, Россия)

**ВВЕДЕНИЕ:** методика NOSES позволяет удалять препараты без разрезов на передней брюшной стенке и сопровождается меньшим количеством осложнений за счет снижения частоты раневой инфекции. Результаты этих операций при опухолях прямой кишки представлены в ограниченном количестве разнородных исследований, что обуславливает необходимость получения объективных данных с помощью метаанализа.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** сравнить непосредственные и отдаленные результаты двух методов хирургического лечения рака прямой кишки.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:** систематический обзор выполнен в соответствии с практикой и рекомендациями PRISMA.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** отобрано 9 сравнительных исследований за период с 2014 по 2019 гг. В метаанализ включено 1693 пациента: у 765 (45,0%) препарат с опухолью был удален трансанально (группа NOSES) и у 928 (55,0%) - через минилапаротомный доступ (группа LA). Размер опухоли в группе NOSES оказался на 0,5 см меньше (ОШ=0.5, ДИ95% 0.2-0.8,  $p=0,0004$ ), чем в группе LA. По другим показателям группы не имели публикационных смещений. Продолжительность операции при сравнении NOSES с LA была сопоставимой ( $p=0,11$ ). Болевой синдром по ВАШ оказался, в среднем, на 2 балла (ОШ=1.8, ДИ95% 1.2-2.4,  $p<0,00001$ ) более выражен в группе LA. Послеоперационный койко-день был меньше в группе с трансанальным удалением препарата (ОШ=0.8, ДИ95% 0.4-1.3,  $p=0,0003$ ). Шанс развития послеоперационных осложнений в группе NOSES составил (ОШ=0.5, ДИ95% 0.4-0.8,  $p=0,0004$ ) с частотой 62/765 (8%) случаев, по сравнению с контрольной группой – 130/931 (14%). Шанс развития раневой инфекции был выше в группе LA (ОШ=0.2, ДИ95% 0.1-0.3,  $p<0,00001$ ). Различий в частоте несостоятельности колоректального анастомоза не было ( $p=0,97$ ). Так же не было различий в пятилетней общей ( $p=0,74$ ) и канцер-специфической выживаемости ( $p=0,76$ ).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** использование технологий NOSES создает лучшие условия для реабилитации пациентов ввиду низкой частоты послеоперационных осложнений за счет отсутствия раневой инфекции и является безопасной манипуляцией. Однако наличие публикационных смещений требует осторожной интерпретации полученных данных.

**[Ключевые слова: рак прямой кишки, колоректальная хирургия, онкология, лапароскопическая хирургия, метаанализ]**

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Чернышов С.В., Сычев С.И., Пономаренко А.А., Рыбаков Е.Г. Лапароскопические резекции с трансанальным удалением препарата в хирургическом лечении рака прямой кишки (систематический обзор литературы и метаанализ). *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 150-176. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-150-176>

## LAPAROSCOPIC RESECTIONS WITH TRANSANAL SPECIMEN EXTRACTION IN RECTAL CANCER SURGERY (a systematic review and meta-analysis)

Stanislav V.Chernyshov, Sergey I.Sychev, Alexey A.Ponomarenko, Eugeny G.Rybakov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**INTRODUCTION:** the NOSES technique allows one to remove specimen without incisions on the anterior abdominal wall and is accompanied by fewer complications by reducing the incidence of wound infections. The results of these surgeries on colorectal tumors are presented in a limited number of heterogeneous studies, which necessitates obtaining objective data using meta-analysis.

**AIM:** to compare the immediate and long-term outcomes of two methods for surgical treatment of colorectal cancer.

**MATERIALS AND METHODS:** a systematic review was carried out in accordance with PRISMA practice and recommendations.

**RESULTS:** nine comparative studies were selected for the period from 2014 to 2019. 1,693 patients were included in the meta-analysis: in 765 (45%), the tumor specimen was removed transanally (NOSES group) and in 928 (55%) it was removed via minilaparotomy (LA group). The tumor size in the NOSES group was 0.5 cm smaller (OR=0.5, CI95% 0.2-0.8, p=0.0004) than in the LA group. In regards to the other parameters the groups had no publication bias. The surgery duration when comparing NOSES with LA was comparable (p=0.11). The VAS pain was on average 2 points (OR=1.8, CI95% 1.2-2.4, p<0.00001) more pronounced in the LA group. The postoperative hospital stay was less in the group with transanal specimen removal (OR=0.8, CI95% 0.4-1.3, p=0.0003). The chance of developing postoperative complications in the NOSES group was (OR=0.5, CI95% 0.4-0.8, p=0.0004) with a rate of 62/765 (8%) cases, compared with the control group - 130/931 (14%). The chance of developing wound infection was higher in the LA group (OR=0.2, CI95% 0.1-0.3, p<0.00001). There were no differences in the incidence of anastomotic leakage (p=0.97).

There were also no differences in the five-year overall (p=0.74) and cancer-specific survival (p=0.76).

**CONCLUSION:** using NOSES techniques creates better conditions for the patients' recovery due to the low incidence of postoperative complications due to the absence of wound infection and is a safe manipulation. However, the presence of publication biases requires a careful interpretation of the data obtained.

[Key words: rectal cancer, colorectal surgery, oncology, laparoscopic surgery, metaanalysis]

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Chernyshov S.V., Sychev S.I., Ponomarenko A.A., Rybakov E.G. Laparoscopic resections with transanal specimen extraction in rectal cancer surgery (a systematic review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 150-176. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-150-176>

Адрес для переписки: Сычев Сергей Игоревич, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, ул. Саляма Адилы, д. 2, Москва, 123423, Россия; e-mail: [info@gnck.ru](mailto:info@gnck.ru).

Address for correspondence: Sychev S.I., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: [info@gnck.ru](mailto:info@gnck.ru)

Дата поступления – 21.07.2020

Received – 21.07.2020

После доработки – 08.09.2020

Revised – 08.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Внедрение лапароскопических технологий в хирургию рака прямой кишки позволило значительно снизить количество послеоперационных осложнений, ускорить реабилитацию пациентов и улучшить косметический эффект оперативных вмешательств [1-4]. Однако минилапаротомный разрез, необходимый для извлечения операционного препарата, осложняется инфекцией в 10,3–22,7% случаев, является основной причиной послеоперационного болевого синдрома, а также источником послеоперационных грыж [5-7].

В 1993 году была предложена лапароскопическая резекция толстой кишки по методике NOSES (Natural orifice specimen extraction surgery) с удалением препарата через естественные отверстия без разрезов на передней брюшной стенке [8]. Основными факторами, препятствующими широкому применению этой методики, являются: продолжительность и сложность оперативного вмешательства, а также распространенность опухолевого процесса и размеры первичной опухоли [9].

Предметом дискуссии остается воспроизводимость этих операций, безопасность для пациента, в том числе онкологическая. В этой связи небезынтесным представляется анализ мировой литера-

туры для оценки эффективности и безопасности лапароскопических резекций с трансанальным удалением препарата по методике NOSES в хирургическом лечении рака прямой кишки, в сравнении с традиционными, лапароскопически-ассистирруемыми операциями.

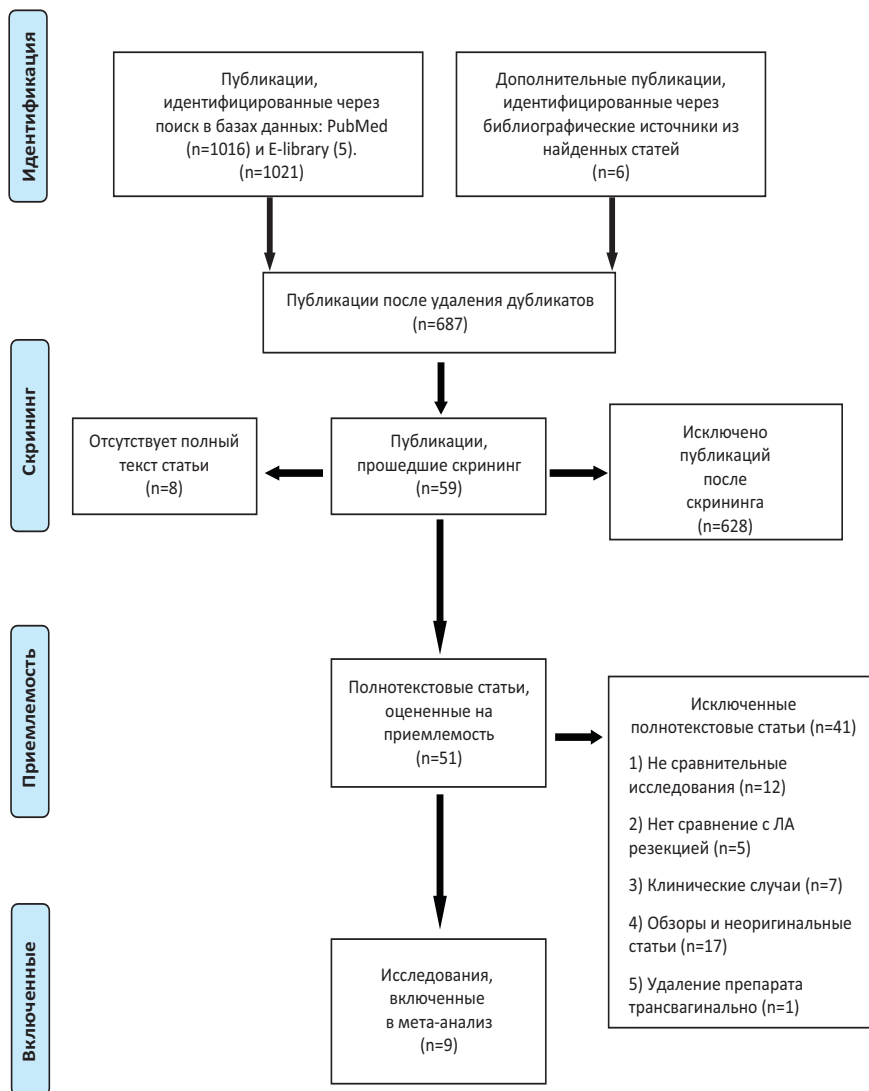
## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Систематический обзор и метаанализ выполнены в соответствии с рекомендациями «The preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses» (PRISMA) [10].

### Поиск публикаций

Поиск оригинальных исследований для анализа проводился в электронных базах данных Medline и E-library по ключевым словам: «колоректальный рак», «колоректальная хирургия», «рак прямой кишки», «rectal cancer», «colorectal surgery», «colorectal disease» «NOTES», «NOSES», «natural orifice specimen extraction», «transanal specimen extraction», и «hybrid natural orifice transluminal endoscopic surgery».

В метаанализ включали сравнительные исследования на русском и английском языках без огра-



**Рисунок 1.** PRISMA-диаграмма поиска статей  
**Figure 1.** PRISMA-article search chart

ничений по дате или статусу публикации, в которых лапароскопические резекции по методике NOSES (с трансанальным удалением препарата) сравнивали с лапароскопически-ассистируемыми резекциями, где макропрепарат удаляли из брюшной полости посредством минилапаротомного доступа. Исследования, в которых опухоль удаляли трансвагинально, были исключены из поиска, так как при сравнении с трансанальным способом это могло существенно исказить результаты. Также были исключены исследования на животных. Дополнительно проводили литературный поиск по библиографическим данным отобранных исследований с целью выявления ненайденных статей при первоначальном поиске.

### Критерии включения и исключения

Критериями включения в исследование являлись пациенты с аденокарциномой прямой кишки с T1-T3 стадией по данным предоперационной компьютерной томографии (КТ).

Критерии исключения из метаанализа: ранний рак, удаляемый с помощью трансанальной эндомикрорургии (ТЭМ), рецидивные, местно-распространенные и метастатические опухоли, а также удаление препарата трансвагинально.

### Получение данных

Следующие данные извлекались из исследований: автор, год публикации, дизайн исследования, качество исследования, число больных в группах (лапароскопические с трансанальным удалением препа-

**Таблица 1.** Характеристика и качество исследований  
**Table 1.** Characteristics and quality of research

№	Автор	Год	Период	Страна	Тип	Шкала качества	N			Пол	
							Общее	NOSES	LA	NOSES	LA
1	Yi Ding et al.	2019	январь 2015 - сентябрь 2017	Китай	просп, ранд	9	86	43	43	25 \18	22 \21
2	Hoi-Loi Ng et al.	2018	сентябрь 2013 - июнь 2016	Китай	ретро	7	73	35	38	20\15	22\16
3	Hu et al.	2019	июнь 2015 - 2018	Китай	ретро	8	52	26	26	17\9	15\11
4	Liu et al.	2019	январь 2015 - декабрь 2017	Китай, Россия	ретро	8	768	356	412	192\164	235\177
5	Park et al.	2018	январь 2006 - ноябрь 2012	Корея	ретро	8	276	138	138	32\106	41\97
6	Wang et al.	2019	январь 2011 - сентябрь 2013	Китай	ретро	8	67	30	37	19\11	20\17
7	Hisada et al.	2014	2011 - 2012	Япония	ретро	7	70	20	50	12\8	н\д
8	Xingmao et al.	2014	май 2012 - июль 2013	Китай	ретро	8	197	65	132	32\33	57\75
9	Zhou et al.	2019	январь 2017 - январь 2018	Китай	ретро	8	104	52	52	27\25	27\25

рата и лапароскопически-асиструемые резекции), характеристика групп, послеоперационные осложнения, болевой синдром по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), общая и канцер-специфическая 5-летняя выживаемость, удовлетворенность косметическими результатами.

#### Статистический анализ

Статистический анализ при прямом сравнении методик проводили при помощи программы Review Manager 5.3. Суммарное значение дихотомических данных описано в виде отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). ОШ рассчитывали по методу Peto, если одно из значений двупольной таблицы равнялось 0. Непрерывные данные описывали не стандартизированным взвешенным средним с ДИ 95%. Статистическую гетерогенность среди исследований оценивали с помощью  $\chi^2$ -теста. Статистически значимой гетерогенностью считали при  $p < 0,1$  и  $I^2 > 50\%$ .

#### Качество исследований

Качество включенных исследований оценили согласно шкале Newcastle-Ottawa Score (NOS). При наличии уровня 7 из 9 звезд исследование считалось высококачественным (Табл. 1).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

После составления запроса было найдено 1016 статей в базе PubMed и 5 статей в E-library. Дополнительно было идентифицировано 6 статей из библиографических списков найденных статей. На следующем этапе поиска были исключены дубликаты и статьи, не подходящие под цели исследования. Далее был проведен критический анализ найденных источников, в результате

которого отобрано 9 полнотекстовых исследований, подходящих под цели метаанализа (Рис.1). Восемь исследований были ретроспективными по дизайну и одно - проспективным рандомизированным, опубликованные за период с 2014 по 2019 гг. Всего в метаанализ включено 1693 пациента, из которых у 765(45,0%) препарат с опухолью был удален трансанально (группа NOSES) и у 928(55,0%) - через минилапаротомный доступ (группа LA).

Результаты проанализированы в следующем порядке: исследование публикаций на наличие гетерогенности в группах по предоперационным показателям, анализ интраоперационных показателей, непосредственных и отдаленных результатов (Рис.2).

## ПРЕДОПЕРАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Исследования по полу, возрасту, индексу массы тела, проведенному неoadьювантному лечению, полостным вмешательствам в анамнезе, локализации и расстоянию опухоли от края заднего прохода, а также стадии Т не имели публикационных сдвигов. Единственным статистически значимым фактором ( $p=0,0004$ ) при сравнении NOSES и LA оказался размер опухоли (Табл.2). Данные о размере опухоли представлены в 7 публикациях, включающих 893 пациента, из которых NOSES– 383, LA– 490 (Рис.3). Средний размер опухоли в группе NOSES оказался на 0,5 см меньше (ДИ 95% 0.2-0.8,  $p=0,0004$ ), чем в группе LA. Имеющаяся гетерогенность демонстрирует тот факт, что при использовании подхода с трансанальным удалением препарата осуществлялся подбор пациентов с небольшими опухолями.





**Рисунок 2.** Блок-схема описания результатов  
**Figure 2.** Block diagram description of the results

## ИНТРАОПЕРАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

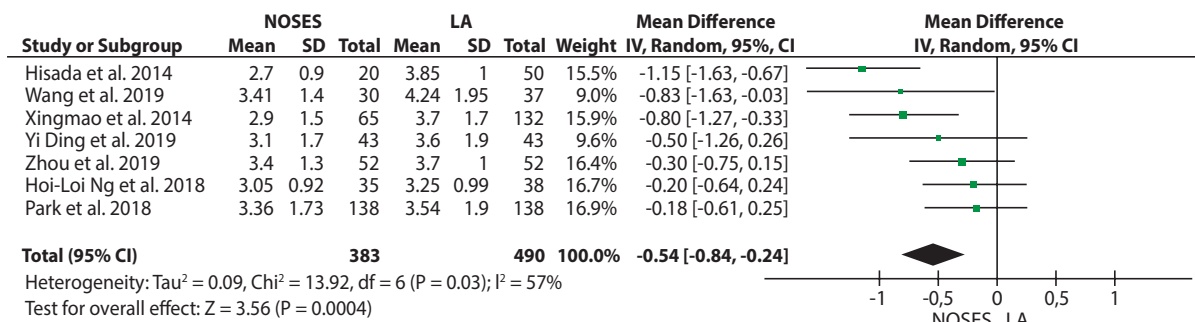
1. Продолжительность операции в минутах при сравнении NOSES с LA оказалась сопоставима ( $p=0,11$ ). Данные представлены в 8 исследованиях, включающих 925 пациентов: 409 – NOSES и 516 – LA (Рис.4).  
 2. Данные об объеме интраоперационной кровопотери имеются в 8 публикациях, включающих 925 пациентов: 409 – группа NOSES и 516 группа LA (Рис.5). Интраоперационная кровопотеря оказалась меньше на 18 мл (ДИ 95% 10-27,  $p<0,0001$ ) в группе NOSES. Вопреки имеющейся гетерогенности, разница в объеме кровопотери пренебрежительно мала и не имеет клинического значения.

3. Данные о частоте конверсий представлены в 2 исследованиях, включающих 1044 пациента, из которых 494 – NOSES, 550 – LA (Рис.6), при этом в группе NOSES за конверсию принимался переход как в открытое оперативное вмешательство, так и в лапароскопически-ассиструемую операцию с минилапаротомным доступом. При сравнении NOSES с LA различий в её частоте не выявлено ( $p=0,93$ ).

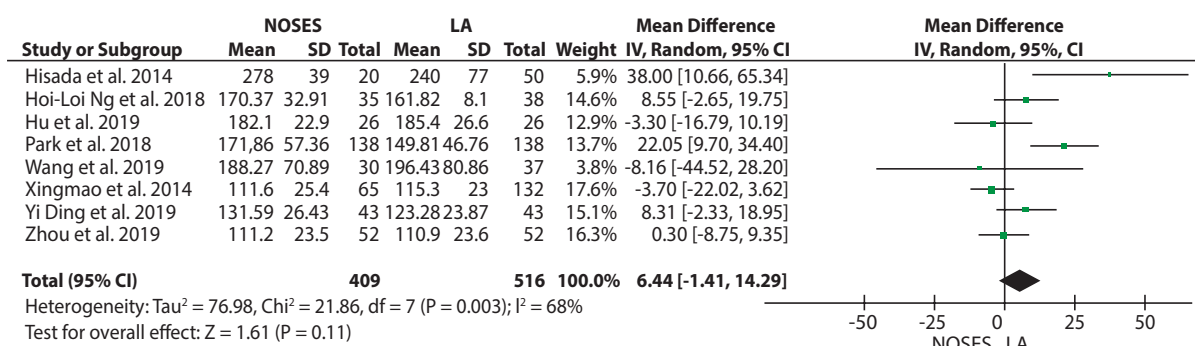
4. Частота формирования превентивной стомы представлена в 2 исследованиях, включающих 1044 пациента, из которых 494 – NOSES, 550 – LA (Рис.7). В группе NOSES отключающая стома была сформирована у 13 пациентов из 494 (3,0%), а в группе LA у 24 из 550 (4,0%), различия статистически не значимы ( $p=0,13$ ).

**Таблица 2.** Сравнение групп на однородность по предоперационным параметрам  
**Table 2.** Comparison of groups for homogeneity by preoperative parameters

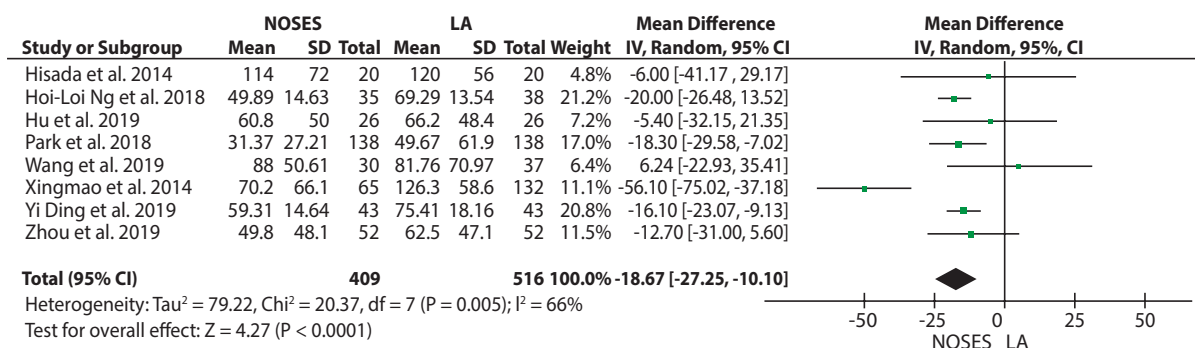
Параметр	NOSES vs LA
Возраст	ОШ=0.27, ДИ 95% 1-1.6, $p=0,69$
Пол	ОШ=1.04, ДИ 95% 0.8-1.3, $p=0,69$
ИМТ	ОШ=0.03, ДИ 95% 0.3 -0.4, $p=0,88$
Неoadьювантная ХЛТ	ОШ=1.30, ДИ 95% 0.7-2.2, $p=0,36$
Операции в анамнезе	ОШ=1.35, ДИ 95% 0.7-2.5, $p=0,34$
Локализация опухоли	ОШ=0.83, ДИ 95% 0.5-1.2, $p=0,34$
Высота опухоли от края ануса (см)	ОШ=0.09, ДИ 95% 0.3-0.4, $p=0,63$
Размер опухоли (см)	ОШ=0.54, ДИ 95% 0.2-0.8, $p=0,0004$
cT3	ОШ=1.35, ДИ 95% 0.8-2.1, $p=0,21$



**Рисунок 3.** Сравнение групп на однородность по размеру опухоли  
**Figure 3.** Comparison of groups for homogeneity in tumor size



**Рисунок 4.** Длительность оперативного вмешательства при сравнении NOSES с LA  
**Figure 4.** Surgery duration when comparing NOSES with LA



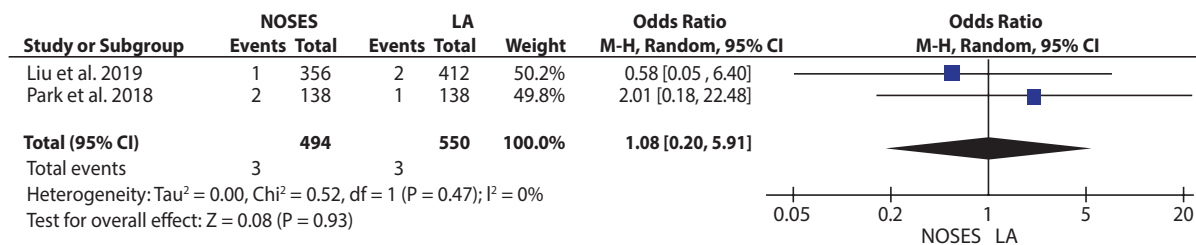
**Рисунок 5.** Интраоперационная кровопотеря при сравнении NOSES с LA  
**Figure 5.** Intraoperative blood loss when comparing NOSES with LA

## НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

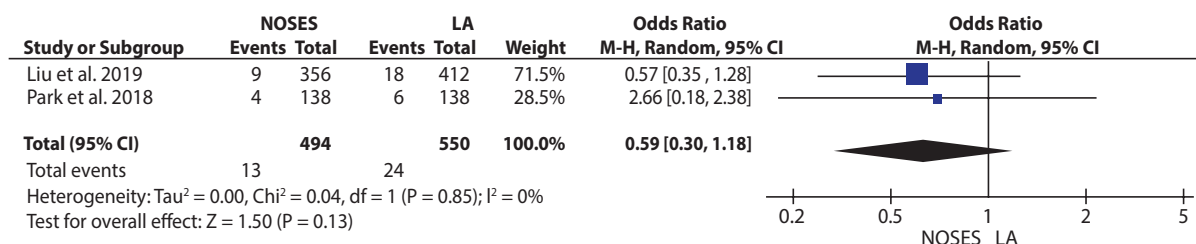
1. Данные о послеоперационном болевом синдроме имеются в 4 исследованиях, включающих 453 пациента: 186 - NOSES и 253 - LA (Рис.8). Интенсивность болевого синдрома оценивали на 1-е сутки после

операции по ВАШ (где 0 баллов - отсутствие боли, а 10 баллов - максимальная боль). Болевой синдром по ВАШ оказался на 2 балла (ДИ 95% 1.2 -2.4, p<0,00001) более выражен в контрольной группе.

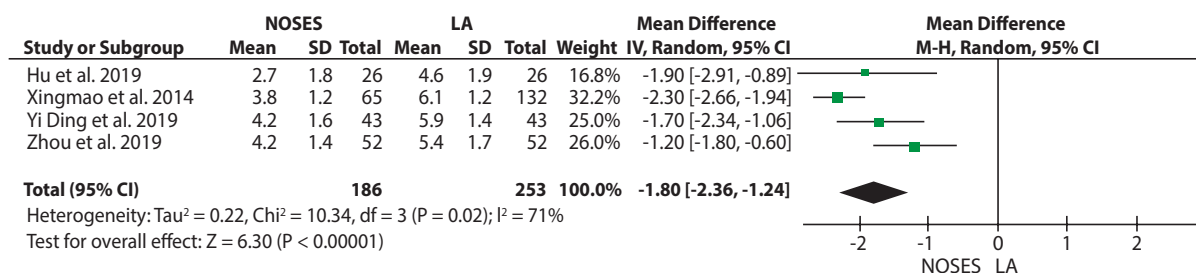
2. Сроки восстановления функции ЖКТ представлены в 6 исследованиях, включающих 576 пациентов: 236 -



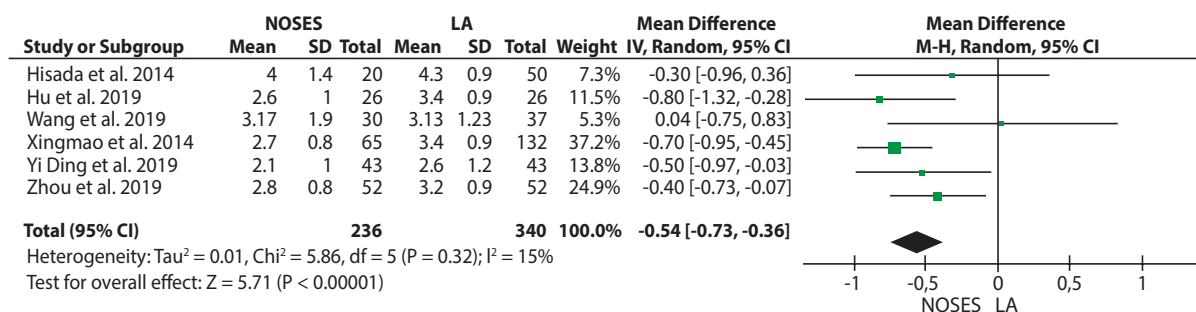
**Рисунок 6.** Частота конверсий при сравнении NOSES с LA  
**Figure 6.** Conversion rate when comparing NOSES with LA



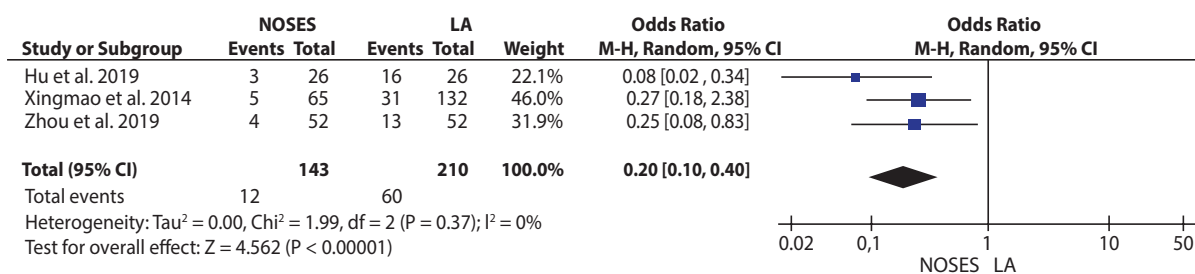
**Рисунок 7.** Частота формирования превентивной стомы при сравнении NOSES с LA  
**Figure 7.** Preventive stoma rate when comparing NOSES with LA



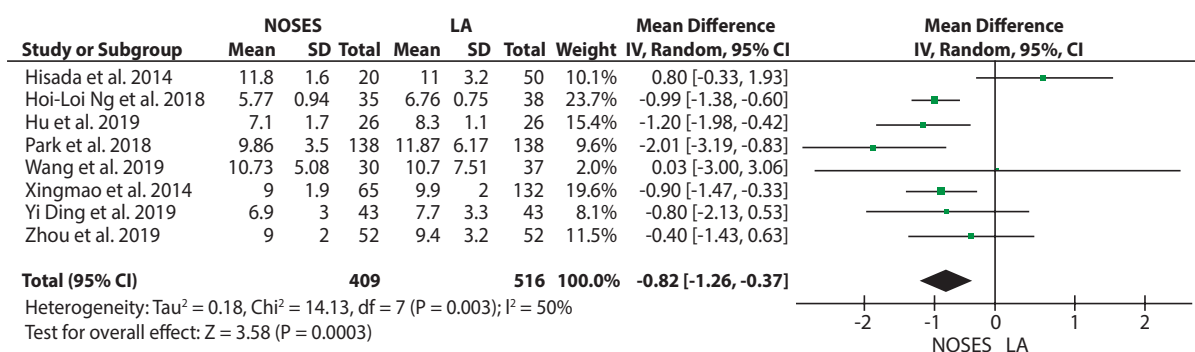
**Рисунок 8.** Интенсивность болевого синдрома при сравнении NOSES с LA  
**Figure 8.** Pain intensity when comparing NOSES with LA



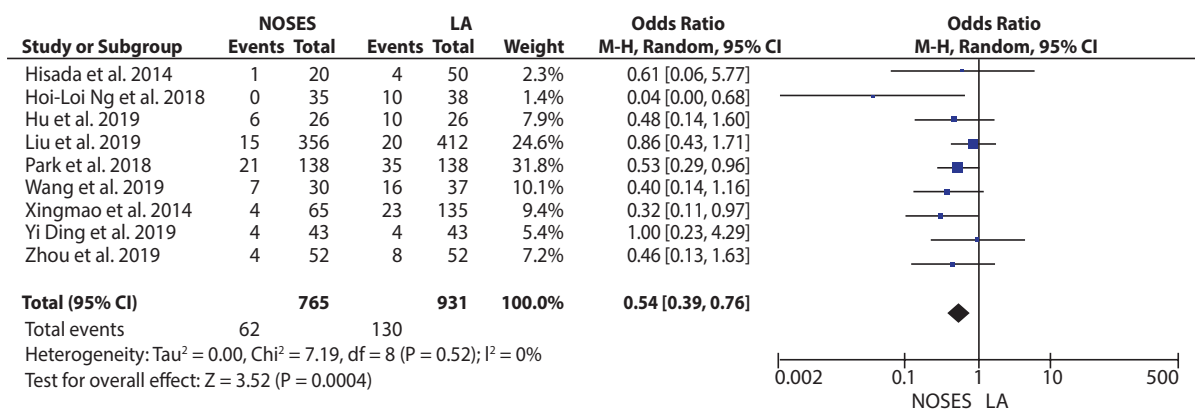
**Рисунок 9.** Восстановление функции ЖКТ при сравнении NOSES с LA  
**Figure 9.** Recovery of bowel function when comparing NOSES with LA



**Рисунок 10.** Потребность в дополнительном обезболивании при сравнении NOSES с LA  
**Figure 10.** Need for additional pain relief when comparing NOSES with LA



**Рисунок 11.** Продолжительность послеоперационного койко-дня при сравнении NOSES с LA  
**Figure 11.** Duration of a postoperative hospital stay when comparing NOSES with LA



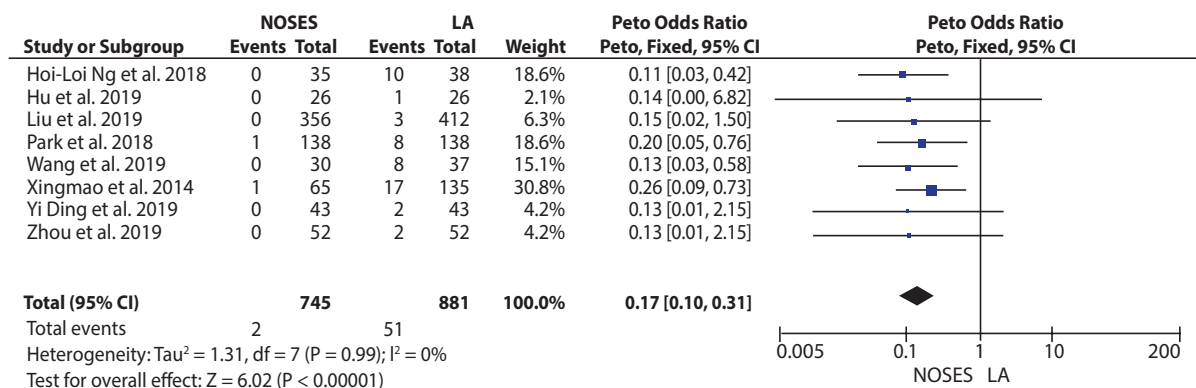
**Рисунок 12.** Частота послеоперационных осложнений при сравнении NOSES с LA  
**Figure 12.** Postoperative complications rate when comparing NOSES with LA

NOSES и 340 – LA (Рис.9). Использовались следующие критерии нормализации функции ЖКТ: возможность питаться энтерально и/или начало отхождения стула или газов. В группе NOSES отмечено восстановление функции ЖКТ в более ранние сроки (ОШ=0.5, ДИ95% 0.4-0.8, p<0,00001). В целом, сроки её восстановления не превысили 4 суток для обеих групп.

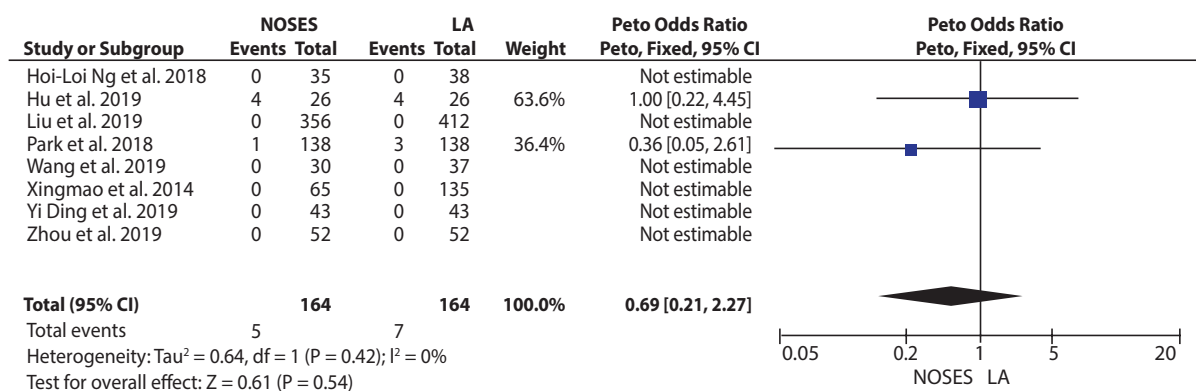
3. Потребность в дополнительном обезболивании представлена в 3 исследованиях, включающих 353 пациента: 143 – NOSES и 210 – LA (Рис.10). В контрольной группе оно потребовалось 12/143 (8%) пациентам, а в группе NOSES - 60/210 (29%). Различия статистически значимы (p<0,0001).

4. Послеоперационный койко-день представлен в 8





**Рисунок 13.** Частота послеоперационной раневой инфекции при сравнении NOSES с LA  
**Figure 13.** Postoperative wound infection rate when comparing NOSES with LA



**Рисунок 14.** Частота послеоперационной задержки мочеиспускания при сравнении NOSES с LA  
**Figure 14.** Postoperative urinary retention rate when comparing NOSES with LA

исследованиях, общее количество включенных пациентов составило 925: группа NOSES – 409, группа LA – 516 (Рис.11). Послеоперационный койко-день оказался меньше в группе с трансанальным удалением препарата (ОШ=0,8, ДИ 95% 0,4-1,3, p=0,0003).

5. Общее количество послеоперационных осложнений представлено в 9 исследованиях, включающих 1696 пациентов: 765 – в группе NOSES и 931 – в группе LA (Рис.12). Шанс развития послеоперационных осложнений оказался меньше в группе NOSES (ОШ=0,5, ДИ 95% 0,4-0,8, p=0,0004) с частотой 62/765 (8%) случаев, по сравнению с контрольной группой – 130/931 (14%).

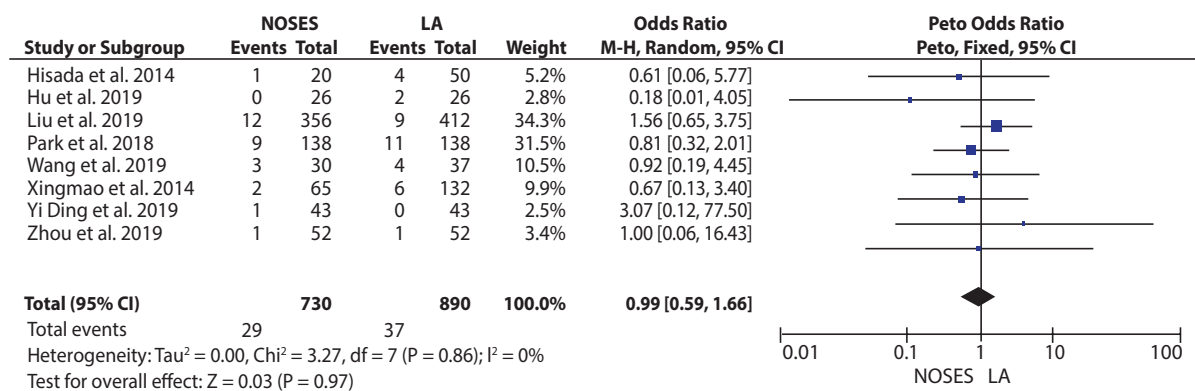
6. Также нами было отдельно рассчитана частота послеоперационной раневой инфекции. В группе NOSES она составила 2/745 (0,3%), а в группе LA – 51/881 (6%). Таким образом, шанс развития раневой инфекции был выше в контрольной группе (ОШ=0,2, ДИ 95% 0,1-0,3, p<0,00001). Данные представлены в 8 публикациях, включающих 1626 пациентов: 745 – NOSES и 881 – LA (Рис.13).

7. Послеоперационная задержка мочеиспускания отмечена в 2 исследованиях, включающих 328

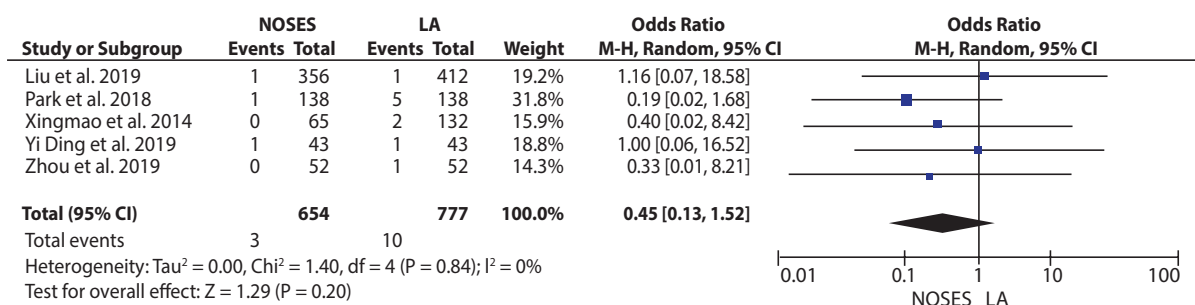
пациентов: 164 – группа NOSES и 164 – группа LA (Рис.14). В группе с трансанальным удалением препарата частота послеоперационной задержки мочеиспускания составила 5\164 (3%) случаев и 7\164 (4%) – в контрольной группе. Статистически значимой разницы между группами получено не было (p=0,54).

8. При сравнении групп в зависимости от частоты несостоятельности колоректального анастомоза не было выявлено статистически значимых различий (p=0,97). Данные представлены в 8 исследованиях, включающих 1620 пациентов: 730 – группа NOSES и 890 – группа LA (Рис.15). Частота несостоятельности в группе с удалением препарата трансанально составила 29 на 730 (4%) случая, а в контрольной группе - 37 на 890 (4%).

9. Частота развития послеоперационного пареза ЖКТ в группе NOSES составила 3/658 (0,5%), а в группе LA – 10/777 (1,3%), при этом не было получено статистически значимых различий. Данные представлены в 5 публикациях, включающих 1431 пациентов (654 - группа NOSES и 777 - группа LA) (Рис.16).



**Рисунок 15.** Частота несостоятельности колоректального анастомоза при сравнении NOSES с LA  
**Figure 15.** Colorectal anastomotic leakage rate when comparing NOSES with LA



**Рисунок 16.** Частота развития послеоперационного пареза ЖКТ при сравнении NOSES с LA  
**Figure 16.** The incidence of postoperative ileus when comparing NOSES with LA

## ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

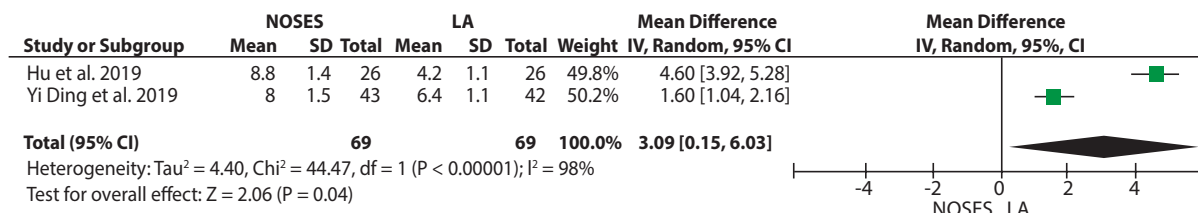
1. В двух исследованиях была отслежена удовлетворенность косметическими результатами спустя 2 месяца после операции. В представленных публикациях оценку производили методом опроса по десятибалльной шкале, где 0 баллов – полная неудовлетворенность, а 10 баллов – максимальная удовлетворенность косметическими результатами. Всего было включено 138 пациентов (по 69 в каждой группе) и при трансанальном извлечении препарата пациенты оценили косметические результаты, в среднем, на 3 балла выше (ДИ 95% 0.1-6,  $p < 0,04$ ), чем в контрольной группе (Рис.17).

2. При анализе онкологических результатов – пятилетняя общая выживаемость отслежена в 2 исследованиях, включающих 380 пациентов (по 190 в каждой группе) (Рис.18). Статистически значимой разницы между двумя группами не было получено ( $p = 0,74$ ).

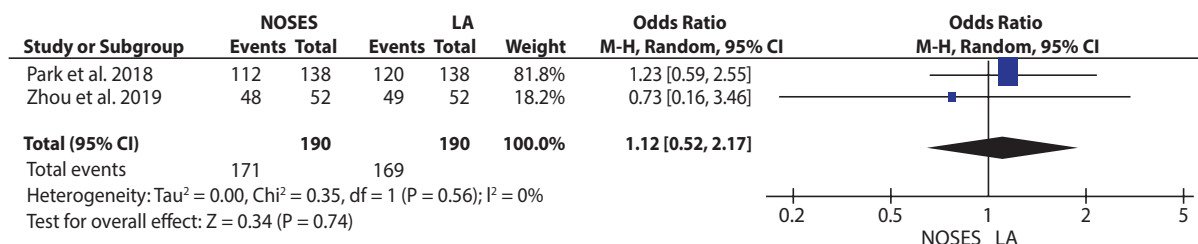
3. Пятилетняя канцер-специфическая выживаемость прослежена в 2 исследованиях, включающих 380 пациентов (по 190 в каждой группе) (Рис.19). При сравнении групп статистически значимой разницы не выявлено ( $p = 0,76$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

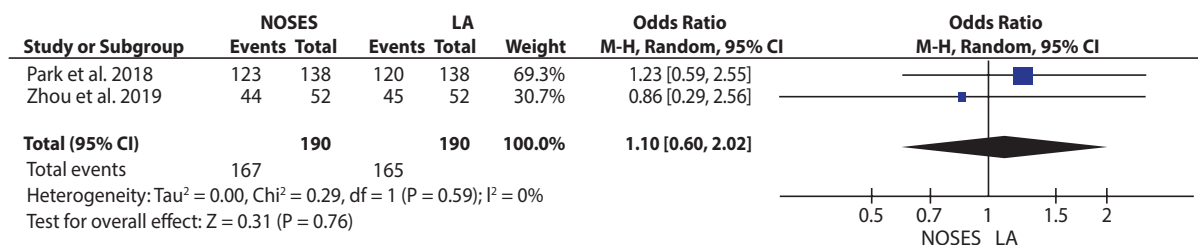
В конце прошлого столетия были опубликованы успешные результаты первой лапароскопической колэктомии с трансанальным удалением препарата по методике NOSES (Franklin M.E. et al, 1993) [8]. С этого момента NOSES-операции стали привлекательной альтернативой традиционным лапароскопическим вмешательствам, так как отсутствие лапаротомного разреза сводит к минимуму вероятность раневой инфекции, сопровождается менее выраженным послеоперационным болевым синдромом и короткими сроками реабилитации [9]. В то же время методика имеет ряд ограничений в виде размера и локализации опухоли. Трансвагинальный способ позволяет успешно удалять крупные опухоли любой локализации, что наглядно продемонстрировали в своем исследовании Yagci M.A. и соавт. в 2017 году, удалив опухоль слепой кишки диаметром 9,0 см [11]. Напротив, при трансанальном способе, по данным литературы, максимально-допустимый размер удаляемой опухоли не превышает 6,5 см [12]. Кроме того, при трансанальном удалении опухолей ободочной кишки риск конверсий в 13,3 раза выше, чем при



**Рисунок 17.** Удовлетворенность косметическими результатами при сравнении NOSES с LA  
**Figure 17.** Satisfaction with cosmetic results when comparing NOSES with LA



**Рисунок 18.** Пятилетняя общая выживаемость при сравнении NOSES с LA  
**Figure 18.** Five-year overall survival when comparing NOSES with LA



**Рисунок 19.** Пятилетняя канцер-специфическая выживаемость при сравнении NOSES с LA  
**Figure 19.** Five-year cancer-specific survival when comparing NOSES with LA

удалении опухолей прямой кишки, о чем свидетельствует ретроспективное исследование, включающее 72 пациента, проведенное Karagul и соавт. в 2015 году [13].

Однако техническая сложность вмешательств, вместе с необходимостью использования специального оборудования, обуславливают весьма ограниченное количество опубликованных исследований, сравнивающих результаты NOSES с традиционными лапароскопическими вмешательствами. Также следует отметить, что имеющиеся исследования не в полной мере соответствуют требованиям современной доказательной медицины, так как 8 из 9 исследований ретроспективные [14-21] и только одно – проспективное рандомизированное [22].

С целью получения объективных непосредственных и отдаленных результатов лапароскопических резекций с трансанальным удалением препарата нами

было инициировано проведение метаанализа. Для того, чтобы исключить вероятность систематических ошибок отбора, решено было не включать в анализ исследования, в которых выполнялось трансвагинальное удаление.

Безопасность – наиболее важный и оцениваемый критерий. Частота и структура послеоперационных осложнений являются краеугольным камнем всех новых методов лечения, особенно в хирургии, где цена ошибки – жизнь и здоровье пациента. При анализе метаданных группа NOSES продемонстрировала меньший шанс развития осложнений (ОШ=0.5, ДИ95% 0.4-0.8, p=0,0004) в сравнении с контрольной группой: общее количество осложнений в NOSES и LA составляет 8% и 14%, соответственно. Логичным выглядит и то обстоятельство, что у пациентов, которым выполнялась экстракция операционного препарата через лапаротомию, преобладает послеопераци-

онная раневая инфекция 6% в отличие от операций по технологии NOSES – 0,3% (ОШ=0.2, ДИ95% 0.1-0.3,  $p<0,00001$ ).

Важно подчеркнуть, что группы не отличались по частоте несостоятельности анастомоза, так как формирование его в целом стандартизировано и не зависит от способа удаления операционного препарата. Фактор формирования проксимальной стомы мог косвенно повлиять на частоту развития клинически значимой несостоятельности колоректального анастомоза. В этой связи нами была проанализирована частота формирования превентивной стомы в представленных исследованиях, однако не было выявлено статистически значимых различий ( $p=0,13$ ). Так в группе NOSES превентивная стома сформирована у 13/494 (3%), а в группе LA – у 24/550 (4%). Однако полученные результаты не позволяют объективно судить о влиянии этого фактора на частоту несостоятельности, так как данные представлены в ограниченном количестве исследований.

Безопасность NOSES - операций подтверждается результатами лечения 139 пациентов в первом и наиболее полном мировом реестре NOSES операций – GERMANNOTES REGISTRY (GNR). Так GNR рапортует о сравнимой или даже более низкой смертности после NOSES операции в сравнении с LA, что, в свою очередь, связано с более низкой частотой послеоперационных осложнений [23].

Низкая частота послеоперационных осложнений не является единственным преимуществом NOSES. Данные представленного метаанализа показывают, что средний койко-день в группе NOSES также оказался меньше, чем в группе LA (ОШ=0.8, ДИ 95% 0.4-1.3,  $p=0,0003$ ). Данные последних исследований демонстрируют, что при лапароскопическом доступе, внутренние органы могут избежать контакта с окружающей средой и не быть контаминированными условно-патогенной флорой [24]. Более того, NOSES позволяет избежать травмы передней брюшной стенки лапаротомным разрезом и сопровождаются меньшим риском травмы сосудов и нервов [25], что непосредственно влияет на выраженность болевого синдрома, который менее выражен в группе NOSES ( $p<0,00001$ ). Последний фактор может посредством повышения тонуса симпатической нервной системы косвенно влиять на вероятность развития послеоперационного пареза ЖКТ [26]. В нашем метаанализе имеется тенденция в меньшей частоте развития пареза ЖКТ в группе NOSES и, хотя различия не достигнуты ( $p=0,2$ ), в группе с трансанальным удалением отмечено восстановление нормальной функции ЖКТ в более ранние сроки (ОШ=0.5, ДИ 95% 0.4-0.8,  $p<0,00001$ ), что также косвенно подтверждает выдвинутую теорию. Эти три фактора, вероятно, объясняют короткие сроки реабилитации пациентов после опе-

рации. Обнадеживающим является отсутствие разницы в частоте возникновения послеоперационной задержки мочеиспускания, которая могла бы негативно повлиять на продолжительность реабилитации пациентов, в связи с риском травмирования тазовых нервных сплетений при трансанальных манипуляциях. При сравнении NOSES с лапароскопическими резекциями статистически значимых различий получено не было ( $p=0,54$ ).

При оценке отдаленных результатов важным фактором является вероятность имплантационных метастазов при трансанальном извлечении препарата. Избежать диссеминации опухолевых клеток можно при использовании специальных стерильных контейнеров для извлечения [27]. Некоторые исследователи предпочитают использовать с этой целью ранопротекторы [28–30]. В результате, при сравнении NOSES с контрольной группой метаанализ не выявил различий в общей и канцер-специфической 5-летней выживаемости ( $p=0,74$  и  $0,76$ , соответственно). Franklin M.E. и соавт. в 2013 году провели ретроспективное исследование на выборке из 179 пациентов и продемонстрировали аналогичные данные: двухлетняя безрецидивная выживаемость у пациентов после лапароскопических резекций с трансанальным удалением препарата составила 95% [31], что не уступает 93,4% канцер-специфической выживаемости у пациентов после традиционных лапароскопических вмешательств [32]. Вместе с тем, статистически значимыми факторами, влияющими на отдаленные результаты, являются не методы извлечения операционного препарата, а факторы, связанные непосредственно с опухолевым процессом, – размеры новообразования, стадия заболевания, а также качество удаленного операционного препарата.

Важно отметить очевидное преимущество NOSES - операций при анализе удовлетворенности пациентов косметическими результатами ( $p<0,04$ ).

Полученные данные требуют осторожной интерпретации. При анализе исследований на однородность было обнаружено, что в группу NOSES осознанно отбирали пациентов с опухолями, которые на 5 мм (ДИ95% 0.2-0.8,  $p=0,0004$ ) были меньше, то есть имела систематическая ошибка отбора. Поэтому для получения объективных данных необходимо проведение рандомизированных исследований, позволяющих нивелировать систематические ошибки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный метаанализ данных литературы показал, что использование технологий NOSES выглядит перспективным направлением в хирургии рака прямой

кишки и создает лучшие условия для реабилитации пациентов ввиду низкой частоты послеоперационных осложнений за счет отсутствия раневой инфекции. Однако наличие публикационных смещений требует осторожной интерпретации полученных данных.

#### УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: *Сычев С.И., Чернышов С.В.*

Сбор и обработка материалов: *Сычев С.И.*

Статистическая обработка: *Сычев С.И., Пономаренко А.А.*  
Написание текста: *Сычев С.И., Чернышов С.В.*  
Редактирование: *Рыбаков Е.Г.*

#### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: *Sychev S.I., Chernyshov S.V.*  
Collection and processing of the material: *Sychev S.I.*  
Statistical processing: *Sychev S.I., Ponomarenko A.A.*  
Writing of the text: *Sychev S.I., Chernyshov S.V.*  
Editing: *Rybakov E.G.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Nelson H, Sargent DJ, Wiend H et al. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004;350(20):2050-2059. doi:10.1056/NEJMoa032651
2. Lacy AM, García-Valdecasas JC, Delgado S et al. Laparoscopy-assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: a randomised trial. *Lancet.* 2002;359(9325):2224-2229. doi:10.1016/S0140-6736(02)09290-5
3. Lacy AM, Delgado S, Castells A et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg.* 2008;248(1):1-7. doi:10.1097/SLA.0b013e31816a9d65
4. Kennedy GD, Heise C, Rajamanickam V et al. Laparoscopy decreases postoperative complication rates after abdominal colectomy: results from the national surgical quality improvement program. *Ann Surg.* 2009;249(4):596-601. doi:10.1097/SLA.0b013e31819ec903
5. Kamiński JP, Pai A, Ailabouni L et al. Role of epidural and patient-controlled analgesia in site-specific laparoscopic colorectal surgery. *JSLs.* 2014;18(4):e2014.00207. doi:10.4293/JSLs.2014.00207
6. Engledow A, Oreilly D. Letter in response to Thedioha U, Mackay G, Leung E, Molloy RG, O'Dwyer PJ (2007) Laparoscopic colorectal resection does not reduce incisional hernia rates when compared with open colorectal resection. *Surg Endosc.* 2008;22(12):2765-2767. doi:10.1007/s00464-008-0171-y
7. Winslow ER, Fleshman JW, Birnbaum EH et al. Wound complications of laparoscopic vs open colectomy. *Surg Endosc.* 2002;16(10):1420-1425. doi:10.1007/s00464-002-8837-3
8. Franklin ME Jr, Ramos R, Rosenthal D et al. Laparoscopic colonic procedures. *World J Surg.* 1993;17(1):51-56. doi:10.1007/BF01655705
9. Ma B, Huang XZ, Gao P et al. Laparoscopic resection with natural orifice specimen extraction versus conventional laparoscopy for colorectal disease: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2015;30(11):1479-1488. doi:10.1007/s00384-015-2337-0
10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J et al. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med.* 2009;151(4):264-W64. doi:10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135
11. Yagci MA, Kayaalp C, Novruzov NH. Intracorporeal mesenteric division of the colon can make the specimen more suitable for natural orifice extraction. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2014;24(7):484-486. doi:10.1089/lap.2014.0116
12. Saad S, Hosogi H. Laparoscopic left colectomy combined with natural orifice access: operative technique and initial results. *Surg Endosc.* 2011;25(8):2742-2747. doi:10.1007/s00464-011-1574-8
13. Karagul S, Kayaalp C, Sumer F et al. Success rate of natural orifice specimen extraction after laparoscopic colorectal resections. *Tech Coloproctol.* 2017;21(4):295-300. doi:10.1007/s10151-017-1611-2
14. Xingmao Z, Haitao Z, Jianwei L et al. Totally laparoscopic resection with natural orifice specimen extraction (NOSE) has more advantages comparing with laparoscopic-assisted resection for selected patients with sigmoid colon or rectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2014;29(9):1119-1124. doi:10.1007/s00384-014-1950-7
15. Zhou S, Wang X, Zhao C et al. Comparison of short-term and survival outcomes for transanal natural orifice specimen extraction with conventional mini-laparotomy after laparoscopic anterior resection for colorectal cancer. *Cancer Manag Res.* 2019;11:5939-5948. Published 2019 Jul 1. doi:10.2147/CMAR.S209194
16. Ng HI, Sun WQ, Zhao XM et al. Outcomes of trans-anal natural orifice specimen extraction combined with laparoscopic anterior resection for sigmoid and rectal carcinoma: An observational study. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(38):e12347. doi:10.1097/MD.00000000000012347
17. Wang R, Wei Z, Liu Q et al. Transanal versus transabdominal specimen extraction in laparoscopic rectal cancer surgery: a retrospective analysis from China. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne.* 2019;14(2):203-209. doi:10.5114/wiitm.2018.79529
18. Hu JH, Li XW, Wang CY et al. Short-term efficacy of natural orifice specimen extraction surgery for low rectal cancer. *World J Clin Cases.* 2019;7(2):122-129. doi:10.12998/wjcc.v7.i2.122
19. Hisada M, Katsumata K, Ishizaki T et al. Complete laparoscopic resection of the rectum using natural orifice specimen extraction. *World J Gastroenterol.* 2014;20(44):16707-16713. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16707
20. Liu Z, Efetov S, Guan X et al. A Multicenter Study Evaluating Natural Orifice Specimen Extraction Surgery for Rectal Cancer. *J Surg Res.* 2019;243:236-241. doi:10.1016/j.jss.2019.05.034
21. Park JS, Kang H, Park SY et al. Long-term outcomes after Natural Orifice Specimen Extraction versus conventional laparoscopy-assisted surgery for rectal cancer: a matched case-control study. *Ann Surg Treat Res.* 2018;94(1):26-35. doi:10.4174/astr.2018.94.1.26
22. Ding Y, Li Z, Gao H et al. Comparison of efficacy between natural orifice specimen extraction without abdominal incision and conventional laparoscopic surgery in the treatment of sigmoid colon cancer and upper rectal cancer. *J BUON.* 2019;24(5):1817-1823.
23. Bulian DR, Runkel N, Burghardt J et al. Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES) for colon resections-analysis of the first 139 patients of the German NOTES Registry (GNR). *Int J Colorectal Dis.* 2014;29(7):853-861. doi:10.1007/s00384-014-1883-1
24. Akiyoshi T, Ueno M, Fukunaga Y et al. Incidence of and risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic anterior resection with intracorporeal rectal transection and double-stapling technique anastomosis for rectal cancer. *Am J Surg.* 2011;202(3):259-264. doi:10.1016/j.amjsurg.2010.11.014
25. Kim HJ, Choi GS, Park JS et al. Transvaginal specimen extraction versus conventional minilaparotomy after laparoscopic anterior resection for colorectal cancer: mid-term results of a case-matched study. *Surg Endosc.* 2014;28(8):2342-2348. doi:10.1007/s00464-014-3466-1
26. Behm B., Stollman N. Postoperative ileus: etiologies and interventions. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc United States.* 2003;1(2):71-80.
27. Bonjer HJ, Deijen CL, Abis GA et al. A randomized trial of



laparoscopic versus open surgery for rectal cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(14):1324-1332. doi:10.1056/NEJMoa1414882

28. Choi GS, Park IJ, Kang BM et al. A novel approach of robotic-assisted anterior resection with transanal or transvaginal retrieval of the specimen for colorectal cancer. *Surg Endosc*. 2009;23(12):2831-2835. doi:10.1007/s00464-009-0484-5

29. Palanivelu C, Rangarajan M, Jategaonkar PA et al. An innovative technique for colorectal specimen retrieval: a new era of "natural orifice specimen extraction" (N.O.S.E). *Dis Colon Rectum*. 2008;51(7):1120-1124. doi:10.1007/s10350-008-9316-2

30. McKenzie S, Baek JH, Wakabayashi M et al. Totally laparoscopic right colectomy with transvaginal specimen extraction: the authors'

initial institutional experience. *Surg Endosc*. 2010;24(8):2048-2052. doi:10.1007/s00464-009-0870-z

31. Franklin M.E., Liang S., Russek K. Integration of transanal specimen extraction into laparoscopic anterior resection with total mesorectal excision for rectal cancer: A consecutive series of 179 patients. *Surg Endosc*. 2013; 27(1):127-132. doi:10.1007/s00464-012-2440-z

32. Guillou PJ, Quirke P, Thorpe H et al. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;365(9472):1718-1726. doi:10.1016/S0140-6736(05)66545-2

## REFERENCES

1. Nelson H, Sargent DJ, Wiend H et al. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2004;350(20):2050-2059. doi:10.1056/NEJMoa032651

2. Lacy AM, Garcia-Valdecasas JC, Delgado S et al. Laparoscopy-assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: a randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9325):2224-2229. doi:10.1016/S0140-6736(02)09290-5

3. Lacy AM, Delgado S, Castells A et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg*. 2008;248(1):1-7. doi:10.1097/SLA.0b013e31816a9d65

4. Kennedy GD, Heise C, Rajamanickam V et al. Laparoscopy decreases postoperative complication rates after abdominal colectomy: results from the national surgical quality improvement program. *Ann Surg*. 2009;249(4):596-601. doi:10.1097/SLA.0b013e31819ec903

5. Kamiński JP, Pai A, Ailabouni L et al. Role of epidural and patient-controlled analgesia in site-specific laparoscopic colorectal surgery. *JSLs*. 2014;18(4):e2014.00207. doi:10.4293/JSLs.2014.00207

6. Engledow A, Oreilly D. Letter in response to Ihedioha U, Mackay G, Leung E, Molloy RG, O'Dwyer PJ (2007) Laparoscopic colorectal resection does not reduce incisional hernia rates when compared with open colorectal resection. *Surg Endosc*. 2008;22(12):2765-2767. doi:10.1007/s00464-008-0171-y

7. Winslow ER, Fleshman JW, Birnbaum EH et al. Wound complications of laparoscopic vs open colectomy. *Surg Endosc*. 2002;16(10):1420-1425. doi:10.1007/s00464-002-8837-3

8. Franklin ME Jr, Ramos R, Rosenthal D et al. Laparoscopic colonic procedures. *World J Surg*. 1993;17(1):51-56. doi:10.1007/BF01655705

9. Ma B, Huang XZ, Gao P et al. Laparoscopic resection with natural orifice specimen extraction versus conventional laparoscopy for colorectal disease: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2015;30(11):1479-1488. doi:10.1007/s00384-015-2337-0

10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J et al. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med*. 2009;151(4):264-W64. doi:10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135

11. Yagci MA, Kayaalp C, Novruzov NH. Intracorporeal mesenteric division of the colon can make the specimen more suitable for natural orifice extraction. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2014;24(7):484-486. doi:10.1089/lap.2014.0116

12. Saad S, Hosogi H. Laparoscopic left colectomy combined with natural orifice access: operative technique and initial results. *Surg Endosc*. 2011;25(8):2742-2747. doi:10.1007/s00464-011-1574-8

13. Karagül S, Kayaalp C, Sumer F et al. Success rate of natural orifice specimen extraction after laparoscopic colorectal resections. *Tech Coloproctol*. 2017;21(4):295-300. doi:10.1007/s10151-017-1611-2

14. Xingmao Z, Haitao Z, Jianwei L et al. Totally laparoscopic resection with natural orifice specimen extraction (NOSE) has more advantages comparing with laparoscopic-assisted resection for selected patients with sigmoid colon or rectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2014;29(9):1119-1124. doi:10.1007/s00384-014-1950-7

15. Zhou S, Wang X, Zhao C et al. Comparison of short-term and survival outcomes for transanal natural orifice specimen extraction with conventional mini-laparotomy after laparoscopic anterior resection for colorectal cancer. *Cancer Manag Res*. 2019;11:5939-5948. Published 2019 Jul 1. doi:10.2147/CMAR.S209194

16. Ng HI, Sun WQ, Zhao XM et al. Outcomes of trans-anal natural orifice specimen extraction combined with laparoscopic anterior resection for sigmoid and rectal carcinoma: An observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(38):e12347. doi:10.1097/MD.00000000000012347

17. Wang R, Wei Z, Liu Q et al. Transanal versus transabdominal specimen extraction in laparoscopic rectal cancer surgery: a retrospective analysis from China. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne*. 2019;14(2):203-209. doi:10.5114/wiitm.2018.79529

18. Hu JH, Li XW, Wang CY et al. Short-term efficacy of natural orifice specimen extraction surgery for low rectal cancer. *World J Clin Cases*. 2019;7(2):122-129. doi:10.12998/wjcc.v7.i2.122

19. Hisada M, Katsumata K, Ishizaki T et al. Complete laparoscopic resection of the rectum using natural orifice specimen extraction. *World J Gastroenterol*. 2014;20(44):16707-16713. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16707

20. Liu Z, Efetov S, Guan X et al. A Multicenter Study Evaluating Natural Orifice Specimen Extraction Surgery for Rectal Cancer. *J Surg Res*. 2019;243:236-241. doi:10.1016/j.jss.2019.05.034

21. Park JS, Kang H, Park SY et al. Long-term outcomes after Natural Orifice Specimen Extraction versus conventional laparoscopy-assisted surgery for rectal cancer: a matched case-control study. *Ann Surg Treat Res*. 2018;94(1):26-35. doi:10.4174/ast.2018.94.1.26

22. Ding Y, Li Z, Gao H et al. Comparison of efficacy between natural orifice specimen extraction without abdominal incision and conventional laparoscopic surgery in the treatment of sigmoid colon cancer and upper rectal cancer. *J BUON*. 2019;24(5):1817-1823.

23. Bulian DR, Runkel N, Burghardt J et al. Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES) for colon resections-analysis of the first 139 patients of the German NOTES Registry (GNR). *Int J Colorectal Dis*. 2014;29(7):853-861. doi:10.1007/s00384-014-1883-1

24. Akiyoshi T, Ueno M, Fukunaga Y et al. Incidence of and risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic anterior resection with intracorporeal rectal transection and double-stapling technique anastomosis for rectal cancer. *Am J Surg*. 2011;202(3):259-264. doi:10.1016/j.amjsurg.2010.11.014

25. Kim HJ, Choi GS, Park JS et al. Transvaginal specimen extraction versus conventional minilaparotomy after laparoscopic anterior resection for colorectal cancer: mid-term results of a case-matched study. *Surg Endosc*. 2014;28(8):2342-2348. doi:10.1007/s00464-014-3466-1

26. Behm B., Stollman N. Postoperative ileus: etiologies and interventions. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc United States*. 2003;1(2):71-80.

27. Bonjer HJ, Deijen CL, Abis GA et al. A randomized trial of laparoscopic versus open surgery for rectal cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(14):1324-1332. doi:10.1056/NEJMoa1414882

- 
28. Choi GS, Park IJ, Kang BM et al. A novel approach of robotic-assisted anterior resection with transanal or transvaginal retrieval of the specimen for colorectal cancer. *Surg Endosc.* 2009;23(12):2831-2835. doi:10.1007/s00464-009-0484-5
29. Palanivelu C, Rangarajan M, Jategaonkar PA et al. An innovative technique for colorectal specimen retrieval: a new era of "natural orifice specimen extraction" (N.O.S.E). *Dis Colon Rectum.* 2008;51(7):1120-1124. doi:10.1007/s10350-008-9316-2
30. McKenzie S, Baek JH, Wakabayashi M et al. Totally laparoscopic right colectomy with transvaginal specimen extraction: the authors' initial institutional experience. *Surg Endosc.* 2010;24(8):2048-2052. doi:10.1007/s00464-009-0870-z
31. Franklin M.E., Liang S., Russek K. Integration of transanal specimen extraction into laparoscopic anterior resection with total mesorectal excision for rectal cancer: A consecutive series of 179 patients. *Surg Endosc.* 2013; 27(1):127-132. doi:10.1007/s00464-012-2440-z
32. Guillou PJ, Quirke P, Thorpe H et al. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2005;365(9472):1718-1726. doi:10.1016/S0140-6736(05)66545-2



**ПРЕДСТАВЛЯЕТ**  
*научное издание*

# МЕТАСТАТИЧЕСКИЙ КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК

**ПОД РЕДАКЦИЕЙ О.Г. СКИПЕНКО,  
Ю.А. ШЕЛЫГИНА, С.И. АЧКАСОВА**



**39 ВЕДУЩИХ УЧЁНЫХ  
ДЕЛЯТСЯ  
СОВРЕМЕННЫМ ОПЫТОМ  
ДИАГНОСТИКИ  
И ЛЕЧЕНИЯ  
МЕТАСТАТИЧЕСКОГО  
ПОРАЖЕНИЯ  
РАЗЛИЧНЫХ  
ОРГАНОВ**

ООО «ДЕЛЬТА ПЛЮС»

ОГРН: 1157746354754

Адрес: 117041, г. Москва, ул. Адмирала Лазарева,  
дом 52, корпус 3, этаж 1, помещение IVa, комната 5

**ТЕЛЕФОН ОТДЕЛА ПРОДАЖ:**

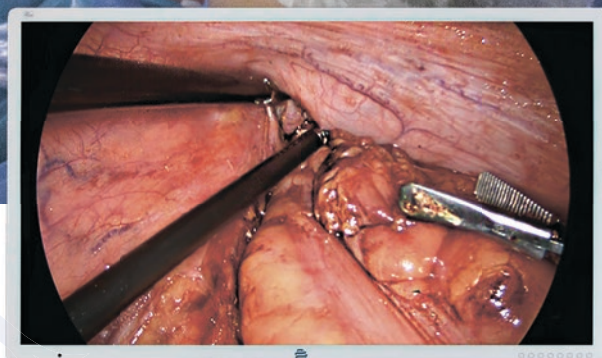
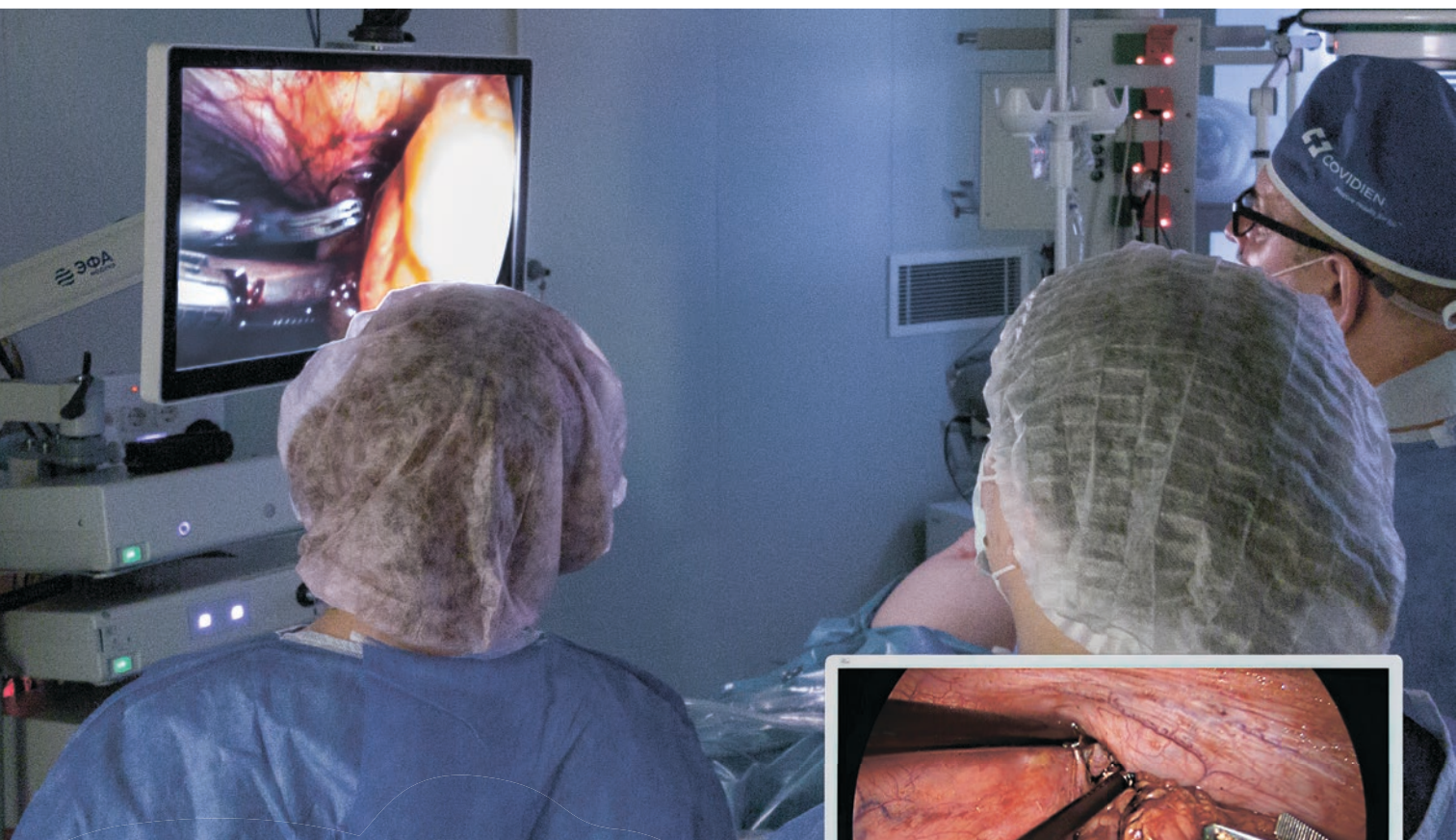
+7(903)0038348

**ИНТЕРНЕТ-МАГАЗИН:**

OZON.RU

18+





## Бескомпромиссное качество изображения без задержек

Разработчики нашей компании ведут постоянную работу по совершенствованию и оптимизации процесса обработки видеосигнала.\*

Результатом их работы стали:

- реальное разрешение Full HD без масштабирования изображения
- широкий динамический диапазон
- точная передача цвета
- высокая детализация анатомических структур
- задержка сигнала не превышающая 14 мс

Мы комплектуем наши системы визуализации лапароскопами с разрешением от HD до 4K/UHD



[efamedica.ru](http://efamedica.ru)

ООО "ЭФА медика"  
198216, Санкт-Петербург  
Ленинский пр. 140, литер А  
+7 (812) 504-89-10  
[spb@efamedica.ru](mailto:spb@efamedica.ru)

\*компания гарантирует данные показатели в случае закупки полного комплекта системы визуализации "ЭФА-М": эндоскопическая камера "ЭФА-М" 3-CHIP, эндоскопический источник света "ЭФА-М" LED, эндоскопический монитор 27"-32" FullHD/4k.

# LAPAROSCOPIC RESECTIONS WITH TRANSANAL SPECIMEN EXTRACTION IN RECTAL CANCER SURGERY (a systematic review and meta-analysis)

Stanislav V.Chernyshov, Sergey I.Sychev, Alexey A.Ponomarenko, Eugeny G.Rybakov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology (Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

**INTRODUCTION:** the NOSES technique allows one to remove specimen without incisions on the anterior abdominal wall and is accompanied by fewer complications by reducing the incidence of wound infections. The results of these surgeries on colorectal tumors are presented in a limited number of heterogeneous studies, which necessitates obtaining objective data using meta-analysis.

**AIM:** to compare the immediate and long-term outcomes of two methods for surgical treatment of colorectal cancer.

**MATERIALS AND METHODS:** a systematic review was carried out in accordance with PRISMA practice and recommendations.

**RESULTS:** nine comparative studies were selected for the period from 2014 to 2019.

1,693 patients were included in the meta-analysis: in 765 (45%), the tumor specimen was removed transanally (NOSES group) and in 928 (55%) it was removed via minilaparotomy (LA group). The tumor size in the NOSES group was 0.5 cm smaller (OR=0.5, CI95% 0.2-0.8, p=0.0004) than in the LA group. In regards to the other parameters the groups had no publication bias. The surgery duration when comparing NOSES with LA was comparable (p=0.11). The VAS pain was on average 2 points (OR=1.8, CI95% 1.2-2.4, p<0.00001) more pronounced in the LA group. The postoperative hospital stay was less in the group with transanal specimen removal (OR=0.8, CI95% 0.4-1.3, p=0.0003). The chance of developing postoperative complications in the NOSES group was (OR=0.5, CI95% 0.4-0.8, p=0.0004) with a rate of 62/765 (8%) cases, compared with the control group - 130/931 (14%). The chance of developing wound infection was higher in the LA group (OR=0.2, CI95% 0.1-0.3, p<0.00001). There were no differences in the incidence of anastomotic leakage (p=0.97).

There were also no differences in the five-year overall (p=0.74) and cancer-specific survival (p=0.76).

**CONCLUSION:** using NOSES techniques creates better conditions for the patients' recovery due to the low incidence of postoperative complications due to the absence of wound infection and is a safe manipulation. However, the presence of publication biases requires a careful interpretation of the data obtained.

[Key words: rectal cancer, colorectal surgery, oncology, laparoscopic surgery, metaanalysis]

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

For citation: Chernyshov S.V., Sychev S.I., Ponomarenko A.A., Rybakov E.G. Laparoscopic resections with transanal specimen extraction in rectal cancer surgery (a systematic review and meta-analysis). *Koloproktologia*. 2020; v.19, no.4, pp. 150-176. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-150-176>

Address for correspondence: Sychev S.I., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; e-mail: [info@gnck.ru](mailto:info@gnck.ru)

Received – 21.07.2020

Revised – 08.09.2020

Accepted for publication – 09.12.2020

## INTRODUCTION

The introduction of laparoscopic techniques in rectal cancer surgery has significantly reduced the number of postoperative complications, enhanced recovery, and improved the cosmetic effect [1-4]. However, the minilaparotomy required to extract the surgical specimen is complicated by infection in 10.3-22.7% of cases, and is the main cause of postoperative pain, as well as the source of postoperative hernias [5-7].

In 1993, laparoscopic colon resection was proposed using the NOSES (Natural orifice specific extraction surgery), with the specimen removed through natural

openings without incisions on the anterior abdominal wall [8].

The main factors hindering the widespread use of this technique are: the duration and complexity of surgery, as well as the prevalence of the tumor process and the size of the primary tumor [9].

The reproducibility of these surgeries and patient safety, including cancer, remain the subject of discussion.

In this regard, it is interesting to analyze the world literature to assess the effectiveness and safety of laparoscopic resections with transanal specimen removal using the NOSES method in the rectal cancer surgeries, in comparison with traditional, laparoscopically-assisted surgeries.



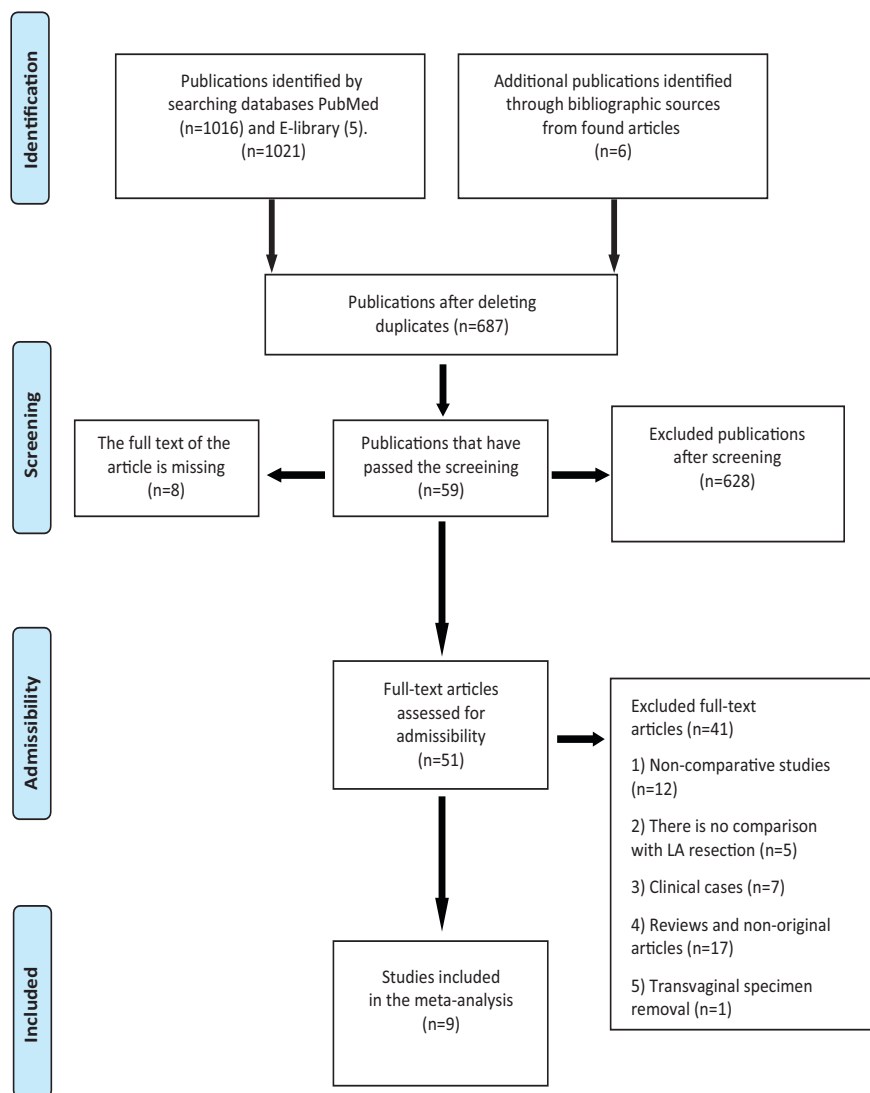


Figure 1. PRISMA-artic search chart

## MATERIALS AND METHODS

The systematic review and meta-analysis were performed in accordance with the recommendations of "The preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses" (PRISMA) [10].

### Search for Publications

The search for original studies for analysis was carried out in the Medline and E-library by key words: "colorectal cancer", "colorectal surgery", "rectal cancer", "colorectal disease", "NOTES", "NOSES", "natural orifice specimen extraction", "transanal specimen extraction", and "hybrid natural orifice transluminal endoscopic surgery".

The meta-analysis included comparative studies in

Russian and English without restrictions on the date or status of publication, in which laparoscopic resections using the NOSES method (with transanal specimen removal) were compared with laparoscopically-assisted resections, where the macro-specimen was removed from the abdominal cavity by minilaparotomy.

The studies in which the tumor was removed transvaginally were excluded from the search, since when compared with the transanal method, this could significantly distort the results.

Animal studies were also excluded.

In addition, a literature search was performed on the bibliographic data of selected studies in order to identify unfound articles during the initial search.

### Inclusion and Exclusion Criteria

The criteria for inclusion in the study were patients

**Table 1.** Characteristics and quality of research

№	Author	Year	Period	Country	Type	Quality score	N			Gender	
							Overall	NOSES	LA	NOSES	LA
1	Yi Ding et al.	2019	January 2015 - September 2017	China	prospective randomized	9	86	43	43	25 \ 18	22 \ 21
2	Hoi-Loi Ng et al.	2018	September 2013 - June 2016	China	retro	7	73	35	38	20 \ 15	22 \ 16
3	Hu et al.	2019	June 2015 – 2018	China	retro	8	52	26	26	17 \ 9	15 \ 11
4	Liu et al.	2019	January 2015 - December 2017	China, Russia	retro	8	768	356	412	192 \ 164	235 \ 177
5	Park et al.	2018	January 2006 - November 2012	Korea	retro	8	276	138	138	32 \ 106	41 \ 97
6	Wang et al.	2019	January 2011 - September 2013	China	retro	8	67	30	37	19 \ 11	20 \ 17
7	Hisada et al.	2014	2011 - 2012	Japan	retro	7	70	20	50	12 \ 8	н \ д
8	Xingmao et al.	2014	May 2012 - July 2013	China	retro	8	197	65	132	32 \ 33	57 \ 75
9	Zhou et al.	2019	January 2017 - January 2018	China	retro	8	104	52	52	27 \ 25	27 \ 25

with rectal adenocarcinoma T1-T3 according to preoperative computed tomography (CT).

The criteria for exclusion from the meta-analysis were early cancer removed by transanal endomicrosurgery (TEM), recurrent, locally advanced and metastatic tumors, and transvaginal specimen removal.

#### Data Acquisition

The following data was found from studies: author, year of publication, study design, study quality, number of patients in groups (laparoscopic with transanal specimen removal and laparoscopically-assisted resections), characteristics of groups, postoperative complications, pain on a visual analog scale (VAS), general and cancer-specific 5-year survival, satisfaction with cosmetic results.

#### Statistical Analysis

The statistical analysis for direct comparison of the methods was performed using the Review Manager 5.3 software. The total value of dichotomous data was described as the odds ratio (OR) with a 95% coincidence interval (CI). OR was calculated using the Peto method if one of the values of the two-field table was 0. The continuous data was described using a non-standardized weighted average with a 95% CI. The statistical heterogeneity among the studies was assessed using the  $\chi^2$  test. Significant heterogeneity was considered at  $p < 0.1$  and  $I^2 > 50\%$ .

#### Research Quality

The quality of the included studies was evaluated according to the Newcastle-Ottawa Score (NOS). With a level of 7 out of 9 stars, the study was considered high-quality (Table 1).

## RESULTS

After compiling the query, 1,016 articles were found in the PubMed database and 5 articles in the E-library. Additionally, 6 articles were identified from the bibliographic lists of the found articles.

At the next stage of the search, duplicates and articles that do not fit the research objectives were excluded. Further, a critical analysis of the found sources was carried out, as a result of which 9 full-text studies that fit the meta-analysis objectives were selected (Fig.1). Eight studies were retrospective by design and one was prospective randomized, published between 2014 and 2019.

A total of 1,693 patients were included in the meta-analysis, of whom 765 (45.0%) had the specimen with the tumor removed transanally (NOSES group) and 928 (55.0%) - via minilaparotomy (LA group).

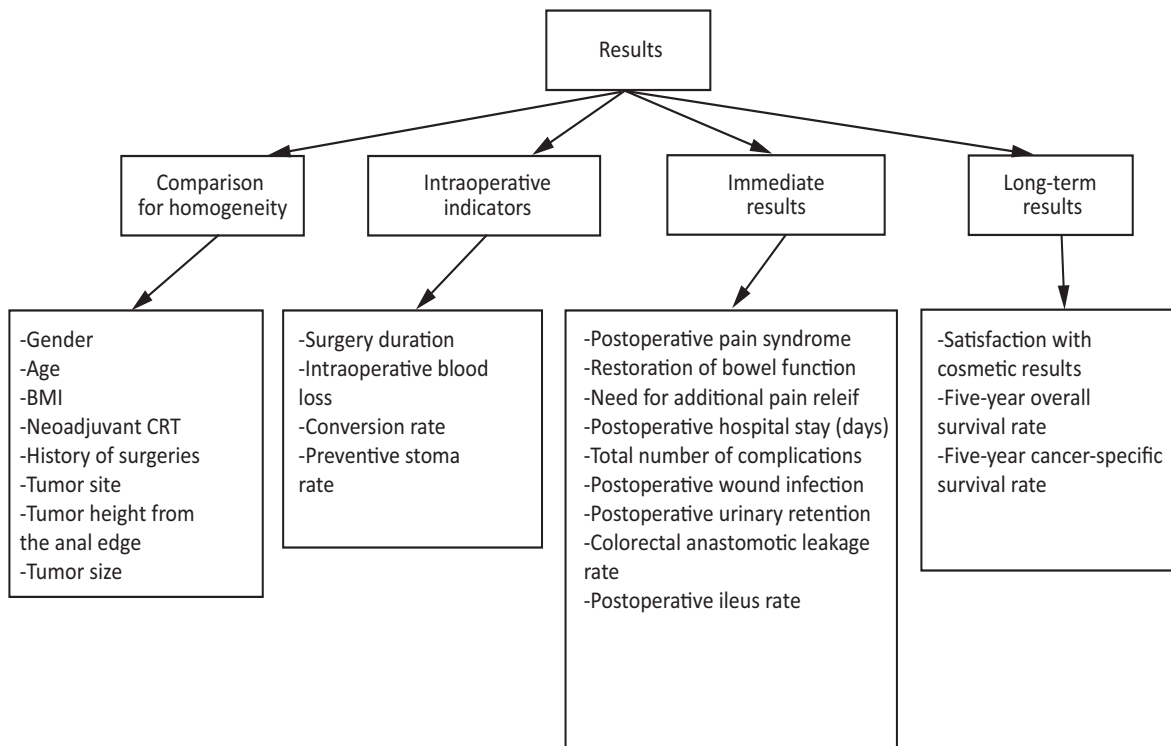
The results were analyzed in the following order: the study of publications for the presence of heterogeneity in groups by preoperative indicators, the analysis of intraoperative indicators, immediate and long-term results (Fig.2).

## PREOPERATIVE INDICATORS

Studies on gender, age, body mass index, neoadjuvant treatment, cavitory surgery history, tumor site and distance of the tumor from the anal edge, and stage T did not have publication shifts.

The only significant factor ( $p = 0.0004$ ) when comparing NOSES and LA was the tumor size (Table 2).

The data on the tumor size is presented in 7 publications, including 893 patients, of whom NOSES - 383, LA - 490 (Fig.3). The average tumor size in the NOSES group was 0.5 cm smaller (CI 95% 0.2-0.8,  $p = 0.0004$ ) than in the



**Figure 2.** Block diagram description of the results

LA group. The existing heterogeneity demonstrates the fact that when using the approach with transanal specimen removal, patients with small tumors were selected.

## INTRAOPERATIVE INDICATORS

1. The operation time in minutes when comparing NOSES with LA was comparable ( $p=0.11$ ). The data is presented in 8 studies involving 925 patients: 409 – NOSES and 516 – LA (Fig.4).
2. The data on the volume of intraoperative blood loss is available in 8 publications, including 925 patients:

409 - NOSES group and 516 - LA group (Fig. 5).

The intraoperative blood loss was 18 ml less (CI 95% 10-27,  $p<0.0001$ ) in the NOSES group.

Despite the existing heterogeneity, the difference in the volume of blood loss is negligible and has no clinical significance.

3. The data on the conversion rate is presented in 2 studies involving 1,044 patients, of whom 494 were in the NOSES group and 550 were in the LA group (Fig.6). In the NOSES group the conversion was taken as a conversion to both open surgery and laparoscopic surgery with minilaparotomy. When comparing NOSES with LA group there were no differences in its rate ( $p=0.93$ ).

**Таблица 2.** Сравнение групп на однородность по предоперационным параметрам

**Table 2.** Comparison of groups for homogeneity by preoperative parameters

Parameter	NOSES vs LA
Age	OR=0.27, CI 95% 1-1.6, $p=0.69$
Gender	OR=1.04, CI 95% 0.8-1.3, $p=0.69$
BMI	OR=0.03, CI 95% 0.3 -0.4, $p=0.88$
Neoadjuvant CRT	OR=1.30, CI 95% 0.7-2.2, $p=0.36$
History of surgeries	OR=1.35, CI 95% 0.7-2.5, $p=0.34$
Tumor site	OR=0.83, CI 95% 0.5-1.2, $p=0.34$
Tumor height from the anal edge	OR=0.09, CI 95% 0.3-0.4, $p=0.63$
Tumor size	OR=0.54, CI 95% 0.2-0.8, $p=0.0004$
cT3	OR=1.35, CI 95% 0.8-2.1, $p=0.21$

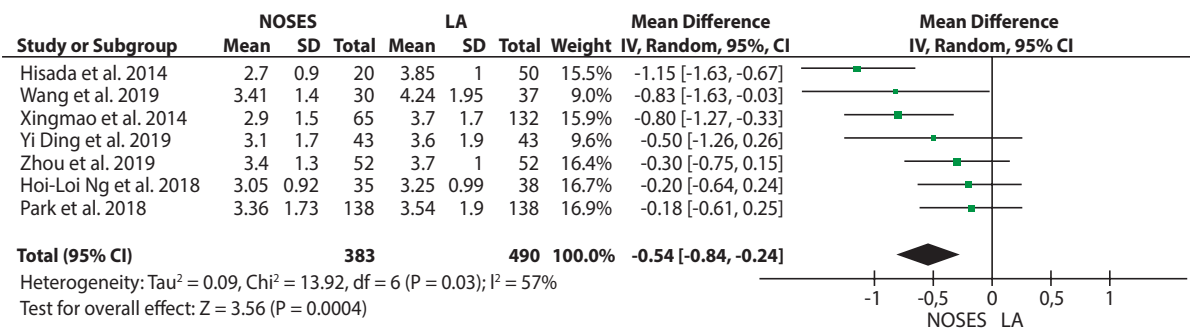


Figure 3. Comparison of groups for homogeneity in tumor size

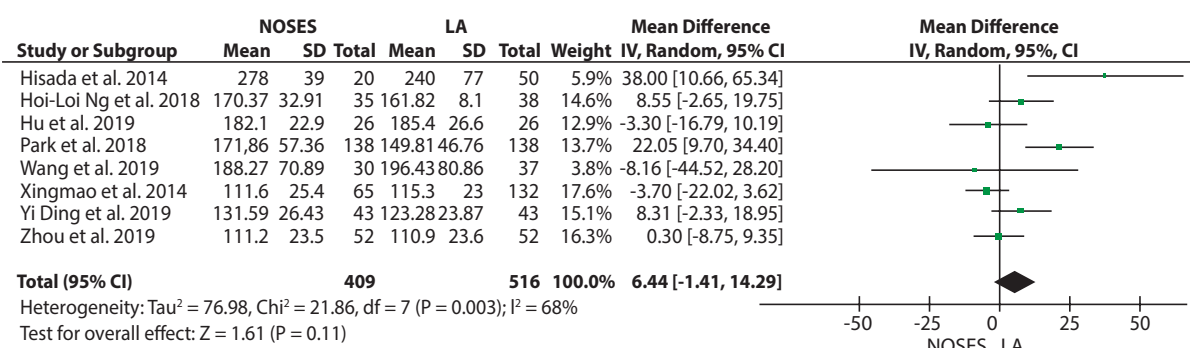


Figure 4. Surgery duration when comparing NOSES with LA

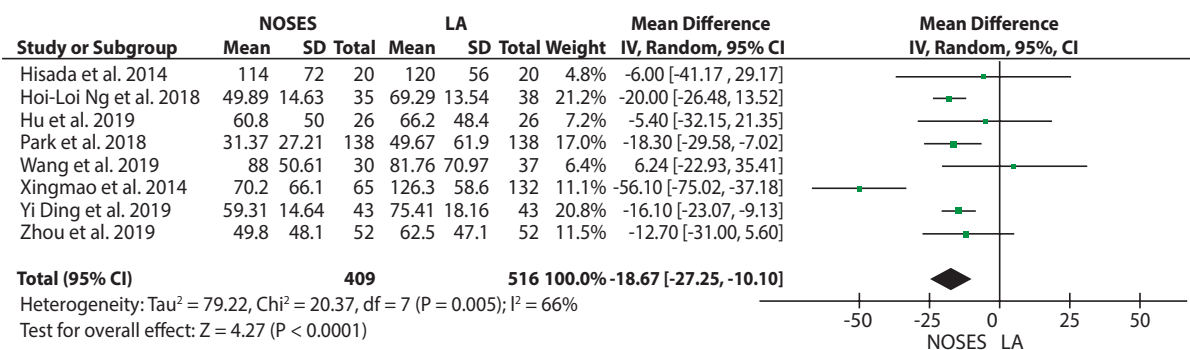


Figure 5. Intraoperative blood loss when comparing NOSES with LA

4. The preventive stoma rate is presented in 2 studies involving 1,044 patients, of whom 494 – NOSES, 550 – LA (Fig.7). In the NOSES group a diversion stoma was formed in 13 patients out of 494 (3.0%), and in the LA group - in 24 out of 550 (4.0%); the differences were not significant (p=0.13).

## IMMEDIATE RESULTS

1. The data on postoperative pain is available in 4 studies involving 453 patients: 186 – NOSES and 253 – LA (Fig.8). The pain intensity was assessed on the 1st day after surgery by VAS (where 0 points – no pain, and

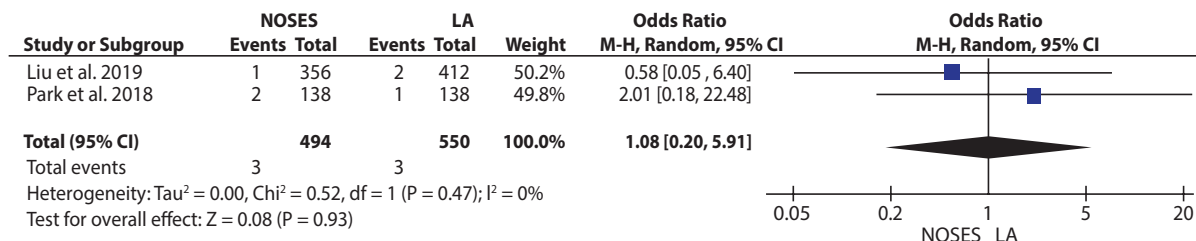


Figure 6. Conversion rate when comparing NOSES with LA

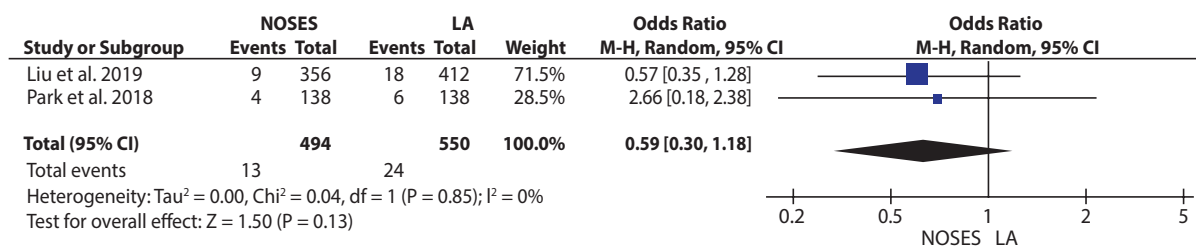


Figure 7. Preventive stoma rate when comparing NOSES with LA

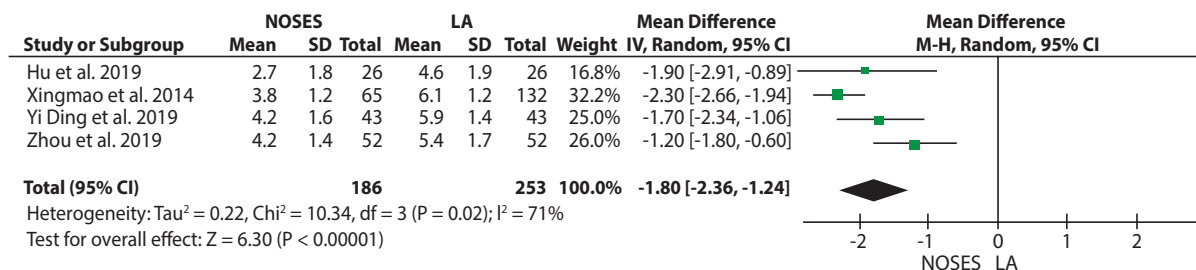


Figure 8. Pain intensity when comparing NOSES with LA

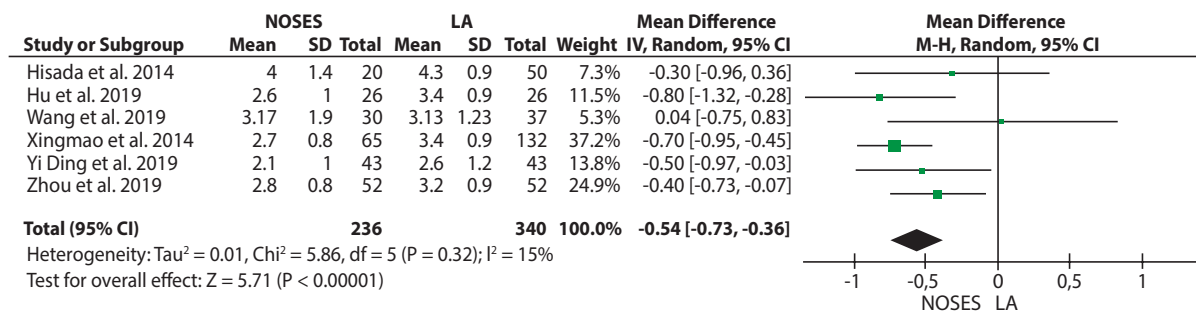


Figure 9. Recovery of bowel function when comparing NOSES with LA



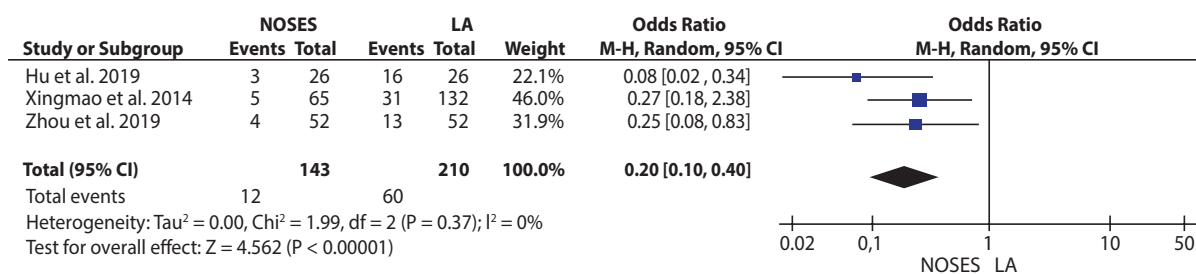


Figure 10. Need for additional pain relief when comparing NOSES with LA

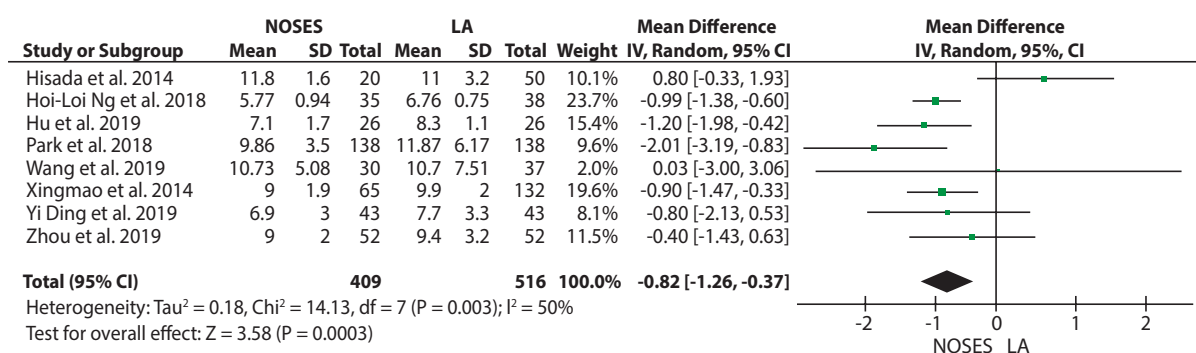


Figure 11. Duration of a postoperative hospital stay when comparing NOSES with LA

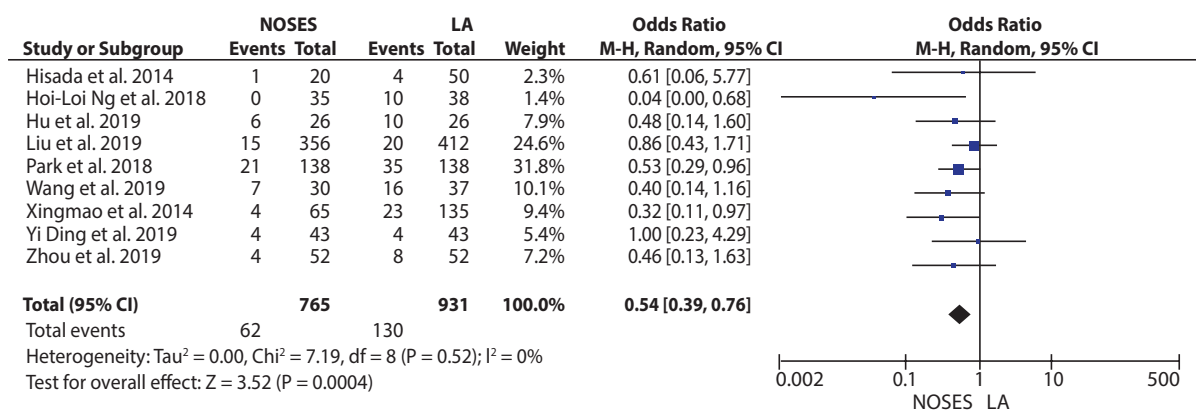


Figure 12. Postoperative complications rate when comparing NOSES with LA

10 points - maximum pain). The VAS pain was 2 points higher (CI 95% 1.2 -2.4, p<0.00001) in the control group.

2. The timing of restoration of bowel function is presented in 6 studies involving 576 patients: 236-NOSES and 340 - LA (Fig.9). The following criteria were used to normalize bowel function: the ability to eat enterally and/or the beginning of stool or

gas discharge. In the NOSES group GI function was restored at an earlier time (OR=0.5, CI 95% 0.4-0.8, p<0.00001). In general, the recovery period did not exceed 4 days for the both groups.

3. The need for additional pain relief is presented in 3 studies involving 353 patients: 143 - NOSES and 210 - LA (Fig.10). In the control group it was required by 12/143 (8%) patients, and in the NOSES

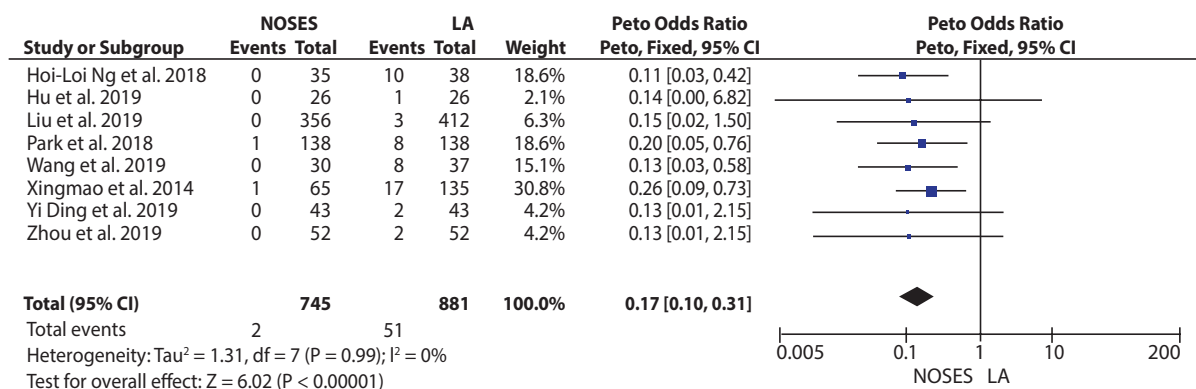


Figure 13. Postoperative wound infection rate when comparing NOSES with LA

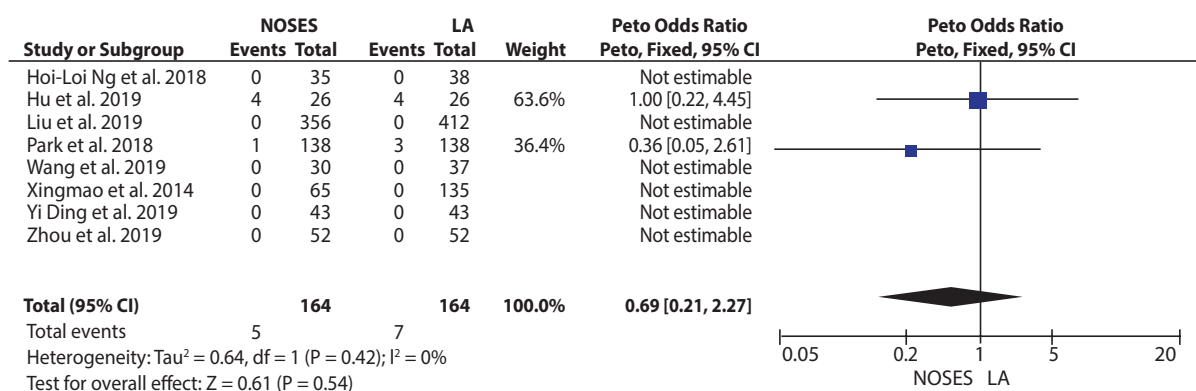


Figure 14. Postoperative urinary retention rate when comparing NOSES with LA

group - 60/210 (29%). The differences are significant ( $p < 0.0001$ ).

4. The postoperative hospital stay was presented in 8 studies, the total number of the patients included was 925: NOSES group - 409, LA group - 516 (Fig.11). The postoperative hospital stay was less in the group with the transanal specimen removal (OR=0.8, CI 95% 0.4-1.3,  $p=0.0003$ ).

5. The total number of postoperative complications is presented in 9 studies involving 1,696 patients: 765 in the NOSES group and 931 in the LA group (Figure 12).

The chance of developing postoperative complications was lower in the NOSES group (OR=0.5, CI 95% 0.4-0.8,  $p=0.0004$ ) with the rate of 62/765 (8%) cases, compared to the control group - 130/931 (14%).

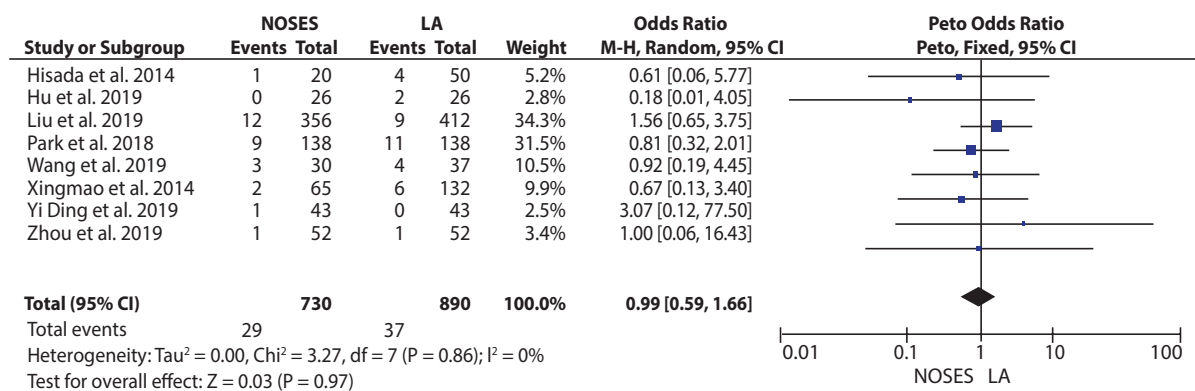
6. The postoperative wound infection rate was separately calculated: in the NOSES group it was 2/745 (0.3%), in the LA group - 51/881 (6%). Thus, the chance of developing wound infection was higher in the control group (OR=0.2, CI 95% 0.1-0.3,  $p < 0.00001$ ). The data is presented in 8 publications,

including 1,626 patients: 745 - NOSES and 881 - LA (Fig. 13).

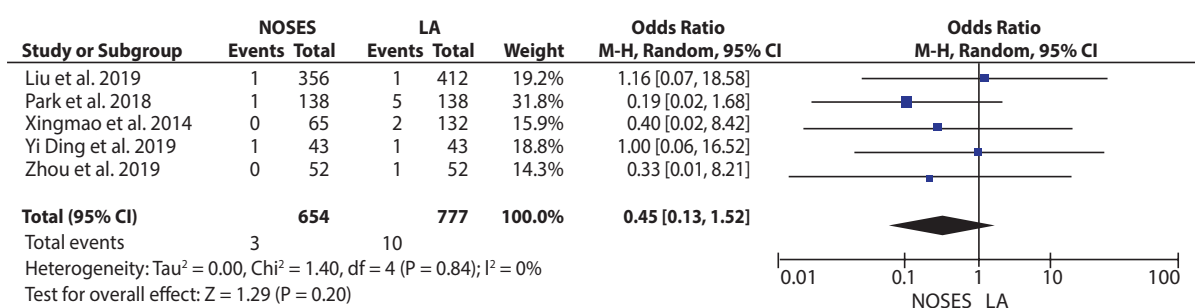
7. Postoperative urinary retention was observed in 2 studies involving 328 patients: 164 - NOSES group and 164 - LA group (Fig.14). In the group with transanal removal of the specimen the postoperative urinary retention rate was 5/164 (3%) cases and 7/164 (4%) in the control group. There was no significant difference between the groups ( $p=0.54$ ).

8. When comparing the groups depending on the incidence of colorectal anastomotic leakage, no significant differences were found ( $p = 0.97$ ). Data is presented in 8 studies, including 1,620 patients: 730 in the NOSES group and 890 in the LA group (Fig.15). The incidence of failure in the group with transanal specimen removal was 29 per 730 (4%) cases, and in the control group - 37 per 890 (4%).

9. The incidence of postoperative ileus in the NOSES group was 3/658 (0.5%), and in the LA group - 10/777 (1.3%), with no significant differences obtained. The data is presented in 5 publications, including 1,431 patients (654 - NOSES group and 777 - LA group) (Fig.16).



**Figure 15.** Colorectal anastomotic leakage rate when comparing NOSES with LA



**Figure 16.** The incidence of postoperative ileus when comparing NOSES with LA

## LONG-TERM RESULTS

1. Two studies tracked satisfaction with cosmetic results 2 months after surgery.

In the presented articles, the assessment was made by a survey method on a ten-point scale, where 0 points - complete dissatisfaction, and 10 points - maximum satisfaction with cosmetic results.

A total of 138 patients were included (69 in each group), and with transanal specimen removal, the patients rated the cosmetic results on average 3 points higher (CI 95% 0.1-6,  $p < 0.04$ ) than in the control group (Fig.17).

2. When analyzing oncological results, five-year overall survival was analyzed in 2 studies, including 380 patients (190 in each group) (Fig.18). There was no significant difference between the two groups ( $p = 0.74$ ).

3. Five-year cancer-specific survival was followed in 2 studies including 380 patients (190 in each group) (Fig.19).

When comparing the groups, no significant difference was found ( $p=0.76$ ).

## DISCUSSION

At the end of the last century, the successful results of the first laparoscopic colectomy with transanal specimen removal using the NOSES technique were published (Franklin M.E. et al, 1993) [8]. Since then, NOSES surgeries have become an attractive alternative to traditional laparoscopic procedures, since the absence of a laparotomic incision minimizes the likelihood of wound infection, is accompanied by less pronounced postoperative pain and short recovery [9]. At the same time, the technique has a number of limitations in the form of tumor size and location. The transvaginal method can successfully remove large tumors of any site, which was clearly demonstrated in their study by Yagci M.A. et al. in 2017, removing a 9.0 cm diameter caecum tumor [11]. On the contrary, with the transanal technique, according to the literature, the maximum permissible size of the removed tumor does not exceed 6.5 cm [12]. In addition, with transanal resection of colon tumors, the risk of conversions is 13.3 times higher than with resection of rectal tumors, as evidenced by a retrospective study of 72 patients by Karagul et al. in 2015 [13].

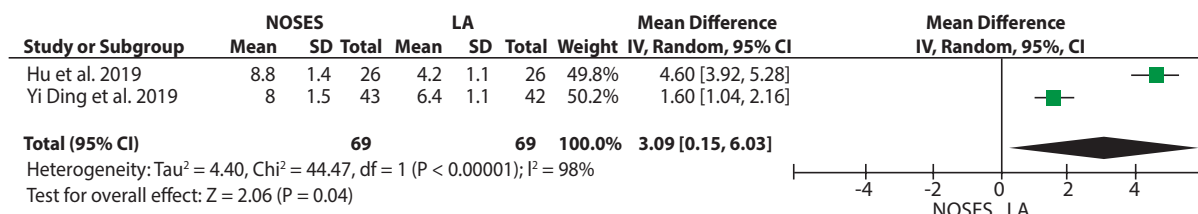


Figure 17. Satisfaction with cosmetic results when comparing NOSES with LA

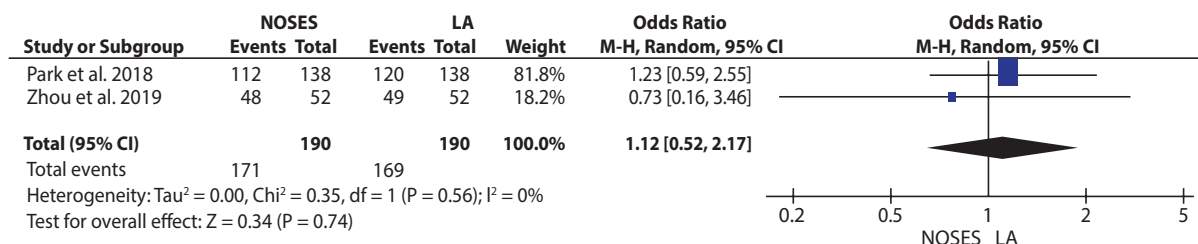


Figure 18. Five-year overall survival when comparing NOSES with LA

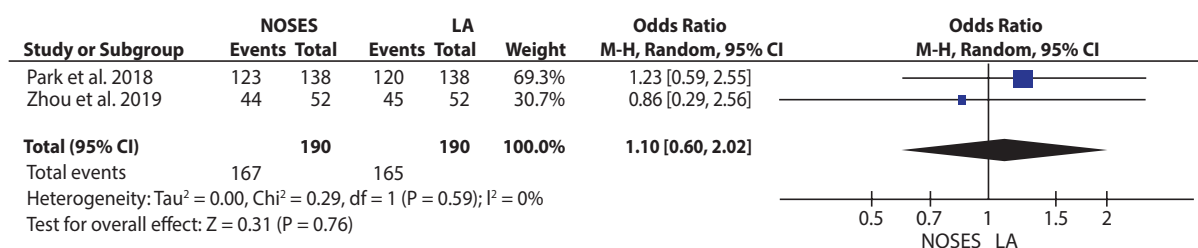


Figure 19. Five-year cancer-specific survival when comparing NOSES with LA

However, the technical complexity of surgeries, together with the need to use special equipment, determine the very limited number of published studies comparing the results of NOSES with traditional laparoscopic surgeries. It should also be noted that the available studies do not fully meet the requirements of modern evidence-based medicine, since 8 out of 9 studies are retrospective [14-21], and only one is prospective randomized [22].

In order to obtain objective immediate and long-term results of laparoscopic resections with transanal specimen removal, we initiated a meta-analysis. In order to exclude the likelihood of systematic selection errors, it was decided not to include the studies in which transvaginal removal was performed in the analysis.

Safety is the most important and assessed criterion. The incidence and structure of postoperative complications are the cornerstone of all new treatment approaches, especially in surgery, where the cost of an error is the

life and health of the patient. When analyzing the metadata, the NOSES group showed a lower chance of complications (OR = 0.5, CI 95% 0.4-0.8, p = 0.0004) compared to the control group: the total number of complications in NOSES and LA is 8% and 14%, respectively.

It is also logical that in patients who underwent removal of the surgical specimen through laparotomy, postoperative wound infection prevails 6%, in contrast to surgeries using the NOSES technique - 0.3% (OR = 0.2, CI 95% 0.1-0.3, p < 0.00001).

It is important to emphasize that the groups did not differ in the anastomotic leakage rate, since its formation is generally standardized and does not depend on the method of removing the surgical specimen. The factor of proximal stoma could indirectly affect the incidence of clinically significant anastomotic leakage. In this regard, the preventive stoma rate was analyzed in the presented studies, but no significant

differences were found ( $p = 0.13$ ). Thus, in the NOSES group the preventive stoma was done in 13/494 (3%), and in the LA group - in 24/550 (4%). However, the results obtained do not allow one to objectively judge the influence of this factor on the incidence of failure, since the data is presented in the limited number of studies.

The safety of NOSES surgeries is confirmed by the results in 139 patients in the first and most complete world registry of NOSES surgeries - GERMANNOTES REGISTRY (GNR). Thus, according to GNR, the mortality is comparable or even lower after NOSES surgery compared to LA, which, in turn, is associated with a lower incidence of postoperative complications [23].

The low incidence of postoperative complications is not the only advantage of NOSES. The data of the presented meta-analysis shows that the average hospital stay in the NOSES group was also less than in the LA group (OR = 0.8, CI 95% 0.4-1.3,  $p = 0.0003$ ). The recent research data demonstrates that with a laparoscopic approach, internal organs can avoid contact with the environment and not be contaminated with conditional pathogenic flora [24]. Moreover, NOSES avoids injury to the anterior abdominal wall by a laparotomic incision and is accompanied by a lower risk of vascular and nerve injury [25], which directly affects the severity of pain, which is less intensive in the NOSES group ( $p < 0.00001$ ).

The latter factor can, by increasing the tone of the sympathetic nervous system, indirectly affect the likelihood of developing postoperative ileus [26]. In our meta-analysis, there is a trend for a lower incidence of postoperative ileus in the NOSES group and although differences were not achieved ( $p = 0.2$ ), in the group with transanal excision, the restoration of normal restored bowel function was noted earlier (OR=0.5, CI 95% 0.4 0.8,  $p < 0.00001$ ), which also indirectly confirms the proposed theory.

These three factors probably explain the short recovery in patients after surgery. It is encouraging that there is no difference in the incidence of postoperative urinary retention, which could adversely affect the duration of recovery, due to the risk of injury to the pelvic nerve plexuses during transanal manipulations. When comparing NOSES with laparoscopic resections, significant differences were not obtained ( $p = 0.54$ ).

When assessing the long-term results, an important factor is the likelihood of implantation metastases during transanal specimen removal. Dissemination of tumor cells can be avoided by using special sterile

extraction containers [27].

Some researchers prefer to use wound protectors for this purpose [28–30]. As a result, when comparing NOSES with the control group, the meta-analysis found no difference in overall and cancer-specific 5-year survival ( $p = 0.74$  and  $0.76$ , respectively). Franklin, M.E. et al. in 2013 conducted a retrospective study on a sample of 179 patients and demonstrated similar data: the two-year disease-free survival rate in patients after laparoscopic resections with transanal specimen removal was 95% [31], which is not inferior to 93.4% of cancer-specific survival in patients after traditional laparoscopic procedures [32].

However, significant factors affecting long-term results are not the methods of extracting the surgical specimen, but factors directly related to the tumor process – the size of the neoplasm, the stage of the disease, as well as the quality of the removed surgical specimen.

It is important to note the obvious advantage of NOSES surgeries when analyzing patient satisfaction with cosmetic results ( $p < 0.04$ ).

The data obtained requires careful interpretation. When analyzing the studies for homogeneity, it was found that the NOSES group consciously selected patients with tumors that were 5 mm smaller (CI 95% 0.2-0.8,  $p = 0.0004$ ), i.e. there was a systematic selection bias. Therefore, in order to obtain objective data, it is necessary to conduct randomized studies that allow leveling systematic errors.

## CONCLUSION

The meta-analysis of the literature data showed that the use of NOSES techniques looks like a promising approach in rectal cancer surgery, and creates better conditions for the patient recovery due to the low postoperative morbidity rate due to the absence of wound infection. However, the presence of publication biases requires careful interpretation of the data obtained.

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Sychev S.I., Chernyshov S.V.

Collection and processing of the material: Sychev S.I.

Statistical processing: Sychev S.I., Ponomarenko A.A.

Writing of the text: Sychev S.I., Chernyshov S.V.

Editing: Rybakov E.G

## REFERENCES

1. Nelson H, Sargent DJ, Wiend H et al. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N*

*Engl J Med.* 2004;350(20):2050-2059. doi:10.1056/NEJMoa032651

2. Lacy AM, García-Valdecasas JC, Delgado S et al. Laparoscopy-



- assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: a randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9325):2224-2229. doi:10.1016/S0140-6736(02)09290-5
3. Lacy AM, Delgado S, Castells A et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg*. 2008;248(1):1-7. doi:10.1097/SLA.0b013e31816a9d65
  4. Kennedy GD, Heise C, Rajamanickam V et al. Laparoscopy decreases postoperative complication rates after abdominal colectomy: results from the national surgical quality improvement program. *Ann Surg*. 2009;249(4):596-601. doi:10.1097/SLA.0b013e31819ec903
  5. Kamiński JP, Pai A, Ailabouni L et al. Role of epidural and patient-controlled analgesia in site-specific laparoscopic colorectal surgery. *JSLs*. 2014;18(4):e2014.00207. doi:10.4293/JSLs.2014.00207
  6. Engledow A, Oreilly D. Letter in response to Ihedioha U, Mackay G, Leung E, Molloy RG, O'Dwyer PJ (2007) Laparoscopic colorectal resection does not reduce incisional hernia rates when compared with open colorectal resection. *Surg Endosc*. 2008;22(12):2765-2767. doi:10.1007/s00464-008-0171-y
  7. Winslow ER, Fleschman JW, Birnbaum EH et al. Wound complications of laparoscopic vs open colectomy. *Surg Endosc*. 2002;16(10):1420-1425. doi:10.1007/s00464-002-8837-3
  8. Franklin ME Jr, Ramos R, Rosenthal D et al. Laparoscopic colonic procedures. *World J Surg*. 1993;17(1):51-56. doi:10.1007/BF01655705
  9. Ma B, Huang XZ, Gao P et al. Laparoscopic resection with natural orifice specimen extraction versus conventional laparoscopy for colorectal disease: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2015;30(11):1479-1488. doi:10.1007/s00384-015-2337-0
  10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J et al. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med*. 2009;151(4):264-W64. doi:10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135
  11. Yagci MA, Kayaalp C, Novruzov NH. Intracorporeal mesenteric division of the colon can make the specimen more suitable for natural orifice extraction. *J Laparosc Adv Surg Tech A*. 2014;24(7):484-486. doi:10.1089/lap.2014.0116
  12. Saad S, Hosogi H. Laparoscopic left colectomy combined with natural orifice access: operative technique and initial results. *Surg Endosc*. 2011;25(8):2742-2747. doi:10.1007/s00464-011-1574-8
  13. Karagul S, Kayaalp C, Sumer F et al. Success rate of natural orifice specimen extraction after laparoscopic colorectal resections. *Tech Coloproctol*. 2017;21(4):295-300. doi:10.1007/s10151-017-1611-2
  14. Xingmao Z, Haitao Z, Jianwei L et al. Totally laparoscopic resection with natural orifice specimen extraction (NOSE) has more advantages comparing with laparoscopic-assisted resection for selected patients with sigmoid colon or rectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2014;29(9):1119-1124. doi:10.1007/s00384-014-1950-7
  15. Zhou S, Wang X, Zhao C et al. Comparison of short-term and survival outcomes for transanal natural orifice specimen extraction with conventional mini-laparotomy after laparoscopic anterior resection for colorectal cancer. *Cancer Manag Res*. 2019;11:5939-5948. Published 2019 Jul 1. doi:10.2147/CMAR.S209194
  16. Ng HI, Sun WQ, Zhao XM et al. Outcomes of trans-anal natural orifice specimen extraction combined with laparoscopic anterior resection for sigmoid and rectal carcinoma: An observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(38):e12347. doi:10.1097/MD.0000000000012347
  17. Wang R, Wei Z, Liu Q et al. Transanal versus transabdominal specimen extraction in laparoscopic rectal cancer surgery: a retrospective analysis from China. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne*. 2019;14(2):203-209. doi:10.5114/wiitm.2018.79529
  18. Hu JH, Li XW, Wang CY et al. Short-term efficacy of natural orifice specimen extraction surgery for low rectal cancer. *World J Clin Cases*. 2019;7(2):122-129. doi:10.12998/wjcc.v7.i2.122
  19. Hisada M, Katsumata K, Ishizaki T et al. Complete laparoscopic resection of the rectum using natural orifice specimen extraction. *World J Gastroenterol*. 2014;20(44):16707-16713. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16707
  20. Liu Z, Efetov S, Guan X et al. A Multicenter Study Evaluating Natural Orifice Specimen Extraction Surgery for Rectal Cancer. *J Surg Res*. 2019;243:236-241. doi:10.1016/j.jss.2019.05.034
  21. Park JS, Kang H, Park SY et al. Long-term outcomes after Natural Orifice Specimen Extraction versus conventional laparoscopy-assisted surgery for rectal cancer: a matched case-control study. *Ann Surg Treat Res*. 2018;94(1):26-35. doi:10.4174/ast.2018.94.1.26
  22. Ding Y, Li Z, Gao H et al. Comparison of efficacy between natural orifice specimen extraction without abdominal incision and conventional laparoscopic surgery in the treatment of sigmoid colon cancer and upper rectal cancer. *J BUON*. 2019;24(5):1817-1823.
  23. Bulian DR, Runkel N, Burghardt J et al. Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES) for colon resections-analysis of the first 139 patients of the German NOTES Registry (GNR). *Int J Colorectal Dis*. 2014;29(7):853-861. doi:10.1007/s00384-014-1883-1
  24. Akiyoshi T, Ueno M, Fukunaga Y et al. Incidence of and risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic anterior resection with intracorporeal rectal transection and double-stapling technique anastomosis for rectal cancer. *Am J Surg*. 2011;202(3):259-264. doi:10.1016/j.amjsurg.2010.11.014
  25. Kim HJ, Choi GS, Park JS et al. Transvaginal specimen extraction versus conventional minilaparotomy after laparoscopic anterior resection for colorectal cancer: mid-term results of a case-matched study. *Surg Endosc*. 2014;28(8):2342-2348. doi:10.1007/s00464-014-3466-1
  26. Behm B., Stollman N. Postoperative ileus: etiologies and interventions. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc United States*. 2003;1(2):71-80.
  27. Bonjer HJ, Deijen CL, Abis GA et al. A randomized trial of laparoscopic versus open surgery for rectal cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(14):1324-1332. doi:10.1056/NEJMoa1414882
  28. Choi GS, Park IJ, Kang BM et al. A novel approach of robotic-assisted anterior resection with transanal or transvaginal retrieval of the specimen for colorectal cancer. *Surg Endosc*. 2009;23(12):2831-2835. doi:10.1007/s00464-009-0484-5
  29. Palanivelu C, Rangarajan M, Jategaonkar PA et al. An innovative technique for colorectal specimen retrieval: a new era of "natural orifice specimen extraction" (N.O.S.E.). *Dis Colon Rectum*. 2008;51(7):1120-1124. doi:10.1007/s10350-008-9316-2
  30. McKenzie S, Baek JH, Wakabayashi M et al. Totally laparoscopic right colectomy with transvaginal specimen extraction: the authors' initial institutional experience. *Surg Endosc*. 2010;24(8):2048-2052. doi:10.1007/s00464-009-0870-z
  31. Franklin M.E., Liang S., Russek K. Integration of transanal specimen extraction into laparoscopic anterior resection with total mesorectal excision for rectal cancer: A consecutive series of 179 patients. *Surg Endosc*. 2013; 27(1):127-132. doi:10.1007/s00464-012-2440-z
  32. Guillou PJ, Quirke P, Thorpe H et al. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;365(9472):1718-1726. doi:10.1016/S0140-6736(05)66545-2

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОМ КАРЦИНОМАТОЗЕ И МЕТАСТАЗАХ РАКА В ПЕЧЕНИ (обзор литературы)

Шубин В.П., Ачкасов С.И., Сушков О.И., Цуканов А.С.

ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России  
(ул.Саляма Адиля, д.2, г.Москва, 123423, Россия)

*ЦЕЛЬ:* провести анализ литературы, посвящённой молекулярно-генетическим особенностям у больных перитонеальным карциноматозом и метастазами рака толстой кишки в печень.

*МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:* при подготовке обзора проанализированы статьи, имеющиеся в информационных базах биомедицинской литературы РИНЦ, Google Scholar, PubMed, Web of Science. По теме исследования было проанализировано более 200 источников литературы, из которых 67 были включены в данный обзор.

*РЕЗУЛЬТАТЫ:* в обзоре литературы рассмотрены данные о молекулярно-генетических изменениях, происходящих при реализации перитонеального карциноматоза и метастазов в печень у больных раком толстой кишки. Выделены ключевые моменты, на которые необходимо обратить внимание при назначении лечения больным метастатическим колоректальным раком.

*ЗАКЛЮЧЕНИЕ:* представленные данные обобщают молекулярно-генетические исследования, позволяющие клиническим онкологам, хирургам и химиотерапевтам выбрать стратегию лечения.

*[Ключевые слова: перитонеальный карциноматоз, метастазы в печень, имплантационное метастазирование, эпителиально-мезенхимальный переход, циркулирующая опухолевая ДНК]*

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Для цитирования:* Шубин В.П., Ачкасов С.И., Сушков О.И., Цуканов А.С. Молекулярно-генетические особенности опухолей толстой кишки при перитонеальном карциноматозе и метастазах рака в печени (обзор литературы). *Колопроктология*. 2020; т.19, №4, с. 177-187. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-4-177-187>

# MOLECULAR-GENETIC FEATURES OF COLORECTAL TUMORS IN PERITONEAL CARCINOMATOSIS AND LIVER METASTASES (review)

Vitaly P.Shubin, Sergey I.Achkasov, Oleg I.Sushkov, Alexey S.Tsukanov

Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology  
(Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia)

*AIM:* to analyze the literature on the molecular genetic characteristics in patients with peritoneal carcinomatosis and liver metastases of colorectal cancer.

*PATIENTS AND METHODS:* RSCI, Google Scholar, PubMed, Web of Science databases were used for review. Over 200 literature sources on the given subject were analyzed, of which 67 were included in this review.

*RESULTS:* in the review, the data on molecular genetic changes occurring during peritoneal carcinomatosis and liver metastases in patients with colorectal cancer were presented. The key points for treatment patients with metastatic colorectal cancer were identified.

*CONCLUSION:* the presented data summarizes molecular genetic studies, which in turn enable clinical oncologists, surgeons and chemotherapists to determine treatment modality.

*[Key words: peritoneal carcinomatosis, liver metastases, implantation metastasis, epithelial-mesenchymal transition, circulating tumor DNA]*

**CONFLICTS OF INTERESTS:** The authors declare no conflicts of interest.

Адрес для переписки: Шубин Виталий Павлович, ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, ул. Салыма Адилы, д. 2, Москва, 123423, Россия, тел.: +7(916)3445479; e-mail: shwit@mail.ru

Address for correspondence: Shubin V.P., Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Salyama Adilya str., 2, Moscow, 123423, Russia; +7(916)3445479; e-mail: shwit@mail.ru

Дата поступления – 26.08.2020  
Received – 26.08.2020

После доработки – 09.09.2020  
Revised – 09.09.2020

Принято к публикации – 09.12.2020  
Accepted for publication – 09.12.2020

## ВВЕДЕНИЕ

Основной причиной, приводящей к высокой смертности при колоректальном раке (КРР), являются метастазы в отдалённые органы. Чаще всего они образуются в печени, лёгких и на париетальной или висцеральной брюшине [1]. Метастазы на брюшине также называют перитонеальный карциноматоз (ПК) [2,3].

Ещё в 1931 году Сэмпсон Д.А. показал, что имплантационный ПК возникает в результате восстановления повреждений брюшины, вызванных раковыми клетками, которые проникли в брюшную полость и укрепились на поверхности серозной мембраны [4]. Сэмпсон выделил три основных этапа, необходимых для успешной реализации перитонеального карциноматоза:

- выход раковых клеток в брюшную полость;
- транспортировка этих клеток к месту их

имплантации;

- реакция брюшины на имплантацию опухолевой клетки.

В третьем этапе было выделено три стадии:

- фиксация раковых клеток фибрином;
- организация фибрина;
- развитие опухолевых клеток.

В тоже время, выделяя имплантационный путь как основной, Сэмпсон не исключал, что ПК при определённых обстоятельствах может формироваться лимфогенным или гематогенным путём. Фактом, свидетельствующим в пользу такого суждения, было обнаружение у больных с перитонеальным карциноматозом опухолевых клеток в лимфоузлах. Однако в настоящее время имеются данные, показывающие, что метастазы, образованные имплантационным и гематогенным путём, имеют ряд молекулярно-генетических отличий [5].

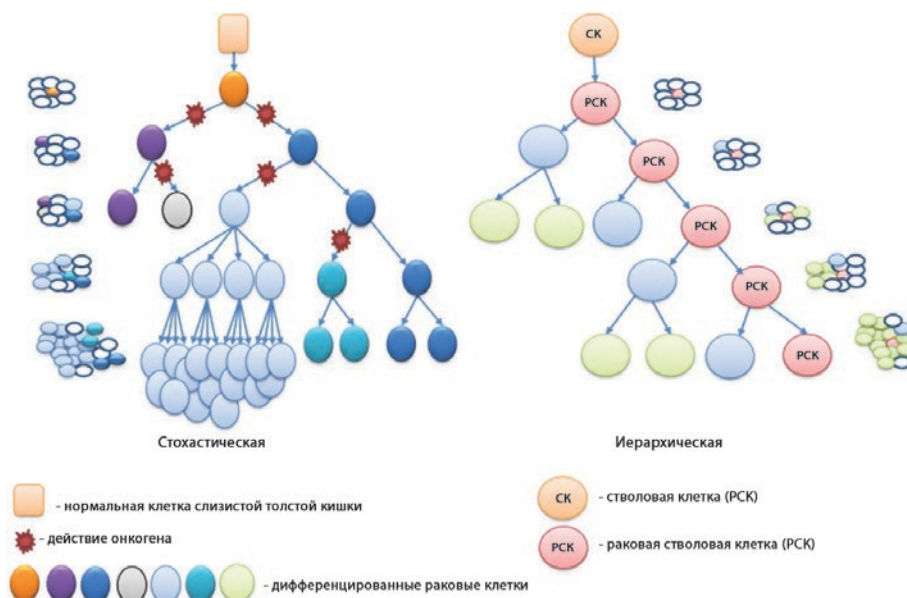


Рисунок 1. Модели канцерогенеза согласно Antoniou A. и соавт. с доработками [15]  
Figure 1. Models of carcinogenesis according to Antoniou A. et al. with modifications [15]

**Таблица 1.** Маркёры раковых стволовых клеток толстой кишки  
**Table 1.** Markers of colon cancer stem cells

Маркёр	Сигнальный путь	Высокая экспрессия маркеров	Ссылка
<i>Lgr5</i>	Wnt/ $\beta$ -catenin	Регистрируется в доброкачественных аденомах, локализована на границе раздела опухоль-хозяин и в сформировавшихся опухолях	[16,17]
<i>EpcAM</i>	Wnt/ $\beta$ -catenin	Свидетельствует о передаче сигналов, миграции, пролиферации и дифференцировке клеток	[18]
<i>CD24</i>	Notch	Связана с активацией Notch 1 в ответ на ингибирование TGF- $\beta$ в культуре клеток	[19]
<i>CD44 (MDU3)</i>	Wnt/ $\beta$ -catenin	Ассоциирована с ранним событием в превращении аденомы в карциному; используется в качестве маркёра незрелой дифференцировки	[20]
<i>PROM1 (CD133)</i>	Ras-Raf-MEK-ERK	Связана с положительной корреляцией отдалённых метастазов, лимфатической и сосудистой инвазии	[21,22]
<i>ALCAM (CD166)</i>	Wnt/ $\beta$ -catenin Notch	Ассоциирована с ранним событием превращения аденомы в карциному; используется также в качестве маркера клеточной адгезии	[23,24]
<i>BMI1</i>	Wnt/ $\beta$ -catenin Hedgehog Notch	Связана с высоким метастатическим потенциалом и свидетельствует об активации одного из сигнальных путей	[25]
<i>Nanog</i>	Wnt	Указывает на мультипотентность опухолевых клеток	[26]

## ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОПУХОЛИ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Согласно общепринятой теории канцерогенеза, рак возникает в результате мутационных изменений в клетке-предшественнице [6]. При этом для наследственных форм рака достаточно одной соматической мутации, так как вторая уже была унаследована от родителей или возникла на этапе эмбриогенеза. В случае спорадических опухолей должны реализоваться две соматические мутации [6]. При колоректальном раке опухоль возникает в клетках слизистой оболочки толстой кишки, среди которых различают 4 типа: всасывающие, бокаловидные (мукоциты), эндокринные и недифференцированные (стволовые) клетки [7]. Также, у основания крипт встречаются единичные клетки Панета, чаще обнаруживаемые в проксимальных отделах толстой кишки [8]. Необходимо отметить, что на протяжении всей кишки соотношение этих клеток разное. Так, содержание бокаловидных и эндокринных клеток увеличивается по направлению к прямой кишке [7]. Поэтому, согласно «стохастической» модели канцерогенеза, которая предполагает, что любая клетка при действии онкогена может перерасти в раковую, в дистальной части толстой кишки должны чаще обнаруживаться муцинозные опухоли с большим содержанием железистого компонента муцина, выделяемого бокаловидными клетками [9]. Однако, по морфологическим данным, частота муцинозных опухолей в правых отделах ободочной кишки выше, чем в левых [10,11]. Вероятно, это связано с тем, что опухоли начинают

развиваться из какой-то первоначальной клетки с последующим сценарием канцерогенеза, зависящим от ряда факторов, в том числе индивидуальных особенностей пациента.

Начиная с 2012 года, после появления доказательств о существовании раковых стволовых клеток (РСК), в данном случае, толстой кишки, образующихся от стволовых клеток толстой кишки [12], «стохастическую» модель канцерогенеза вытесняет «иерархическая», согласно которой опухоль может развиваться только от РСК [13,14] (Рис.1).

Благодаря современным методам исследований, таким как проточная цитометрия, цифровая капельная полимеразно-цепная реакция (ПЦР), ПЦР в реальном времени, а также обнаружению молекулярно-генетических маркеров (Табл.1), появляется все больше убедительных данных в пользу этой теории. Так, в эксперименте O'Brien С.А. на мышах, которым были трансплантированы клетки рака толстой кишки человека, показано, что у них росли опухоли, отличающиеся высокой экспрессией *CD133(PROM1)* [27]. В исследовании Zhou Y. замечено, что для развития метастазов или рецидива достаточно отделения от опухоли даже небольшого числа РСК [28]. Dallas N.A. обнаружил, что опухолевые клетки, не ответившие на действие химиотерапии, демонстрировали высокую экспрессию маркеров, свойственных для раковых стволовых клеток [29]. Причиной, из-за которой раковые стволовые клетки не поддаются действию химиотерапии, может быть схожесть их со своими родоначальниками – стволовыми клетками [12]. Другими словами, трудно подобрать анти-РСК терапию, так как она будет действовать не только на РСК,



но и на нормальные стволовые клетки стенки толстой кишки. Таким образом, данные исследования показывают, насколько значимы РСК для опухоли.

Если наличие раковых стволовых клеток в опухоли является неблагоприятным фактором, то можно предположить, что при перитонеальном карциноматозе их число должно быть высоким. Однако Neumann J., изучая экспрессию маркера РСК *Lgr5*, показал, что в опухолях больных колоректальным раком с ПК, без отдалённых метастазов других локализаций, отсутствуют клетки, экспрессирующие этот маркер [30]. А при метастазах в печени ситуация обратная: в опухоли обнаружены клетки с высоким уровнем экспрессии *Lgr5* [30,31]. Эти данные не исключают причастность раковых стволовых клеток к образованию перитонеального карциноматоза, а лишь указывают на то, что ПК может реализовываться и без их участия. Также можно предположить, что наихудшая форма заболевания связана с проявлениями одновременно ПК и метастазов в печени, что может быть связано с клеточной гетерогенностью первичной опухоли.

Исследования метастатического потенциала злокачественных новообразований толстой кишки показывают, что наряду с раковыми стволовыми клетками отделяться от опухоли могут и эпителиальные опухолевые клетки. Однако, для этого эпителиальная клетка должна преобразоваться в мезенхимальную. Процесс трансформации неподвижной эпителиальной клетки в подвижную мезенхимальную называется эпителиально-мезенхимальным переходом (ЭМП) [32]. В процессе ЭМП в эпителиальной клетке опухоли запускается механизм активации генов мезенхимального фенотипа (*VIMENTIN*, *TWIST*, *ZEB1*, *ZEB2*, *SNAIL1*, *SNAIL2*) и инактивации генов, отвечающих за эпителиальный фенотип (*CDH1*, *CDH2*) [33]. Эпителиальные клетки с изменённым мезенхимальным фенотипом теряют свойства адгезии, плотные контакты друг с другом и уже в изменённом состоянии способны к миграции [34].

В данном контексте невозможно оставить без внимания ятрогенный фактор, например, травматизацию первичной опухоли во время операции как механизм её диссеминации [35].

## МИГРАЦИЯ КЛЕТОК ОПУХОЛИ

Известны два пути миграции опухолевых клеток при развитии метастазов в печени и перитонеального карциноматоза: **гематогенный** и **перитонеальный** [5].

**Гематогенный** путь подразумевает выход опухолевых клеток в кровяное русло. При этом клетки, которые отделились от опухоли и попали в кровоток, называются циркулирующими опухолевыми клетками (ЦОК)

[36]. Известно, что попадание в кровь каких-либо агентов, в том числе и опухолевых клеток, активирует защитный механизм, направленный на их устранение. Так, из крови ЦОК могут быть элиминированы с помощью естественных клеток-киллеров [37]. Чтобы избежать элиминирования, к ЦОК присоединяются нейтрофилы, тромбоциты и макрофаги, образующие защитный слой [37]. В присутствии нейтрофилов и макрофагов циркулирующие опухолевые клетки на своей поверхности повышают экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости, активируют его, что препятствует обнаружению их естественными клетками-киллерами [37]. Кроме того, у тромбоцитов выделяется TGF- $\beta$  и тромбоцитарный фактор роста (PDGF), которые также ингибируют активность естественных клеток-киллеров [38]. Поэтому при гематогенных метастазах часто наблюдаются высокие показатели уровня тромбоцитов в крови [39]. Интересные наблюдения были сделаны McDonald B. в исследовании факторов адгезии циркулирующих опухолевых клеток [40]. Так, для того чтобы ЦОК могли связаться с гепатоцитами печени, они активируют рецептор адгезии CD44. Эта активация происходит в крови благодаря таким элементам как: гиалуронан, остеопонтин, коллаген и металлопротеиназа [40,41]. Уровень данных элементов может быть напрямую связан с метастатическим потенциалом ЦОК. Кроме того, Nicolazzo C. было показано, что ЦОК из опухолей дистальных отделов толстой кишки, по сравнению с опухолями проксимальных отделов, демонстрируют преобладание клеток с мезенхимальным фенотипом [42]. При этом у больных с опухолями из правых отделов ободочной кишки в крови обнаружено доминирование апоптотических ЦОК, отличающихся низкой метастатической активностью [42,43].

**Перитонеальный** путь метастазирования, в отличие от гематогенного, не подразумевает выхода опухолевых клеток в кровоток на этапе отделения их от опухоли. Если в полость брюшины попали единичные клетки, то у них с высокой долей вероятности включится процесс аноикиса. Аноикис – это процесс самоликвидации, отражающий апоптотическую гибель клетки вследствие потери межклеточного взаимодействия [44]. Чтобы избежать запуска аноикиса, опухолевые клетки образуют плотные контакты между собой за счёт активации коллагенов, интегринов или кадгеринов [45]. Важная роль кадгеринов в этом процессе была доказана в исследованиях Bergin E. и Orford K., где продемонстрировано, что блокирование E-кадгерина приводит к аноикису [46], в то время как увеличение экспрессии  $\beta$ -катенина, нисходящего регулятора передачи сигналов E-кадгерина, вызывает устойчивость к аноикису в эпителиальных клетках [47]. После



преодоления всех препятствий опухолевые клетки начинают связываться с клетками брюшины и имплантироваться.

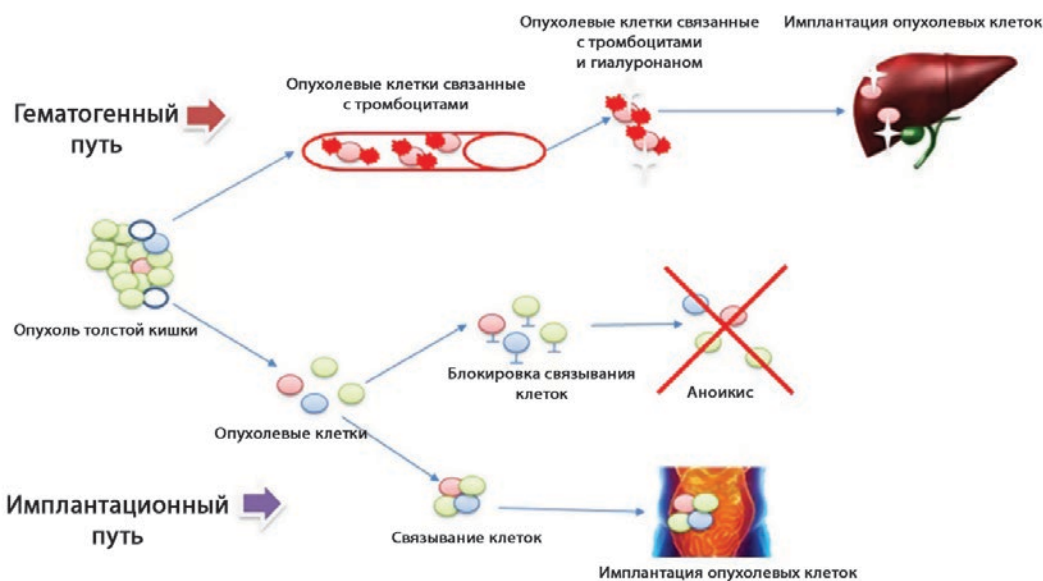
## ЭКСТРАВАЗАЦИЯ И ЭКСФОЛИАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Формирование метастазов является достаточно сложным процессом. Тем не менее, было выделено несколько ключевых моментов, отличающих гематогенное и имплантационное метастазирование (Рис.2).

Процессы экстравазации при гематогенном и эксфолиации при имплантационном метастазировании связаны, прежде всего, с нишами, к которым доставляются клетки. Как уже было продемонстрировано, при гематогенном метастазировании важную роль выполняет рецептор CD44, который в процессе транспортировки по кровеносным сосудам связывается с гиалуронатом, остеопontiном, коллагеном или металлопротеиназой. Формирование этого комплекса необходимо для связывания в печени с синусоидными эндотелиоцитами [40]. После связывания опухолевых клеток с клетками печени включается процесс, в ходе которого опухолевые клетки теряют свои мезенхимальные и приобретают эпителиальные свойства. Этот процесс обратной перестройки называется мезенхимально-эпителиальным переходом

[48]. В ходе мезенхимально-эпителиального перехода инактивируются гены мезенхимального фенотипа (*VIM*, *TWIST*, *ZEB1*, *ZEB2*, *SNAIL1*, *SNAIL2*) и активируются гены эпителиального фенотипа (*CDH1*, *CDH2*) [34,48]. После полной трансформации опухолевые клетки могут находиться в состоянии покоя или перейти в фазу активного роста. Takeda A. показал, что формирование метастазов зависит от скорости ангиогенеза, то есть от скорости образования кровеносных сосудов [49]. Сосудистая сеть во вторичном очаге необходима для транспортировки питательных веществ. Важную роль в ангиогенезе выполняет фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), имеющий, как минимум, 5 изоформ: VEGF121, VEGF-145, VEGF-165, VEGF-189 и VEGF206 [49,50]. Активация любой из этих изоформ может привести к быстрому росту и, следовательно, плохому прогнозу [49].

Процесс эксфолиации при имплантационном метастазировании тесно связан с фиксацией опухолевых клеток фибрином в брюшной полости. Используя современные методы исследования, такие как иммуногистохимический анализ (ИГХ), электронная микроскопия, высокоскоростная микрокинематография, Shahid S. подтвердил, что карциноматозные узлы развиваются на брюшине из-за образования на ней фибрина [51]. Также в эксперименте *in vitro* им было установлено, что опухолевые клетки, культивируемые с брюшной жидкостью, меняют свою конформацию и приобретают мезенхимальные свойства, которые проявляются изменением экспрессии



**Рисунок 2.** Схема процессов гематогенного и имплантационного метастазирования  
**Figure 2.** Hematogenous and implantation metastasis

SLUG, VIMENTIN, N-CAGHERIN, TWIST и FIBRONECTIN, в отличие от опухолевых клеток, культивируемых без брюшной жидкости ( $p=0,001$ ) [51]. Видимо, мезенхимальная трансформация опухолевых клеток происходит из-за благоприятной микросреды в брюшине [51]. Данный факт может указывать на то, что процесс эпителиально-мезенхимального перехода при карциноматозе брюшины реализуется не при отделении опухолевых клеток от первичного очага, хотя этого нельзя исключать, а непосредственно в брюшной полости.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

На данный момент молекулярно-генетические исследования биомаркеров являются неотъемлемой частью при назначении противоопухолевой терапии больным колоректальным раком.

### **Мутации генов семейства RAS**

Мутационный статус генов семейства RAS (*KRAS*, *NRAS*) служит маркером целесообразности назначения анти-EGFR препаратов больным колоректальным раком. Частота соматических мутаций этих генов у больных колоректальным раком с метастазами в печени составляет 45% [52], а у пациентов с перитонеальным карциноматозом – 55% [53].

### **Мутации в гене BRAF**

Мутации в гене *BRAF* у больных с метастазами в печени обнаруживаются редко. Согласно данным мета-анализа, проведённого Pikoulis E., частота мутаций этого гена составляет 2-9% [54]. Самая частая мутация – V600E. Реже встречаются единичные мутации в 599, 594 и 596 кодонах. Если для V600E клиническая значимость доказана, то для мутаций в 599, 594 и 596 кодонах, из-за их редкой встречаемости, исследования не проводились [54].

Частота мутаций гена *BRAF* у больных колоректальным раком с перитонеальным карциноматозом составляет 15-30% [53,55]. При этом Schirripa M. в 10% случаев обнаружила мутации в 601 и 597 кодонах, в 90% случаев в 600 кодоне и ни в одном случае – в 594 и 596 кодонах [55].

### **Статус микросателлитной нестабильности (MSI статус)**

Микросателлитная нестабильность (MSI) при IV стадии колоректального рака встречается редко. Fujiyoshi K., исследуя 401 больного с IV стадией коло-

ректального рака, обнаружил MSI статус в 15(3,7%) случаях [56]. Из этих 15 пациентов у 9 был выявлен перитонеальный карциноматоз, а у 4 – метастазы в печень.

### **Циркулирующие опухолевые ДНК**

Одним из перспективных способов регистрации опухолевых клеток в крови является молекулярно-генетическое исследование циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК), наличие которой может указывать на появление метастазов в печени [57,58].

Исследовать цоДНК стало возможно сравнительно недавно. Бурному развитию данного направления способствовало появление новых методических подходов и высокочувствительных приборов, с помощью которых стали выделять ДНК из плазмы крови и её регистрировать. В исследованиях Bidard F.-C. и Шубин В.П. [59,60] было показано, что наличие мутации в гене *KRAS* или *NRAS* в опухоли у больных с колоректальным раком с метастазами в печени коррелирует с наличием мутации в цоДНК. Также Bidard F.-C. заметил, что после удаления опухоли толстой кишки присутствие остаточной цоДНК в крови больных коррелирует с низкой общей выживаемостью [59]. Osumi H., исследуя больных с метастатическим колоректальным раком, получивших химиотерапию, выявил у 87% больных соматические мутации в цоДНК [61]. Hardingham J.E. доказал, что обнаружение цоДНК в крови, концентрация которой существенно снижается после хирургического удаления опухоли и метастазов, может свидетельствовать о возврате болезни [62].

### **Анализ экспрессии генов**

Регистрация изменения уровня экспрессии генов позволяет выявлять такие процессы, как эпителиально-мезенхимальный и мезенхимально-эпителиальный переходы. По изменению экспрессии генов Sadanandam A. выделил несколько подтипов опухолей, характеризующихся экспрессией определённых генов [63]. «Стволовоподобный» (stem-like) подтип отличается высоким уровнем экспрессии гена *SFRP2*. Опухоли с таким подтипом развиваются из стволовых раковых клеток и имеют плохой прогноз. Воспалительный (inflammatory) подтип характеризуется высоким уровнем экспрессии гена *RARRES*. Транзит-усиливающий (transit-amplifying) подтип включает в себя ещё 2 группы: цетуксимаб-резистентный и цетуксимаб-чувствительный. Цетуксимаб-резистентный имеет плохой, а цетуксимаб-чувствительный – хороший прогноз в отношении выживаемости. Биомаркерами транзит-усиливающего подтипа выступают гены *CFTR*, *FLNA* и их белки. Причём уровень экспрессии *CFTR* повышен как при цетуксимаб-резистентном, так и при цетуксимаб-чувствительном

подтипе, а в случае с *FLNA* повышен только при цетуксимаб-резистентном. Бокаловидноподобный (goblet-like) подтип имеет высокий уровень экспрессии генов *MUC2*, *TFF3* и их белков, при этом характеризуется хорошим прогнозом. При энтероцитном (enterocyte) подтипе профиль биомаркеров такой же, как и при бокаловидноподобном. Единственное отличие – пониженный уровень экспрессии гена *TFF3* и его продукта. Прогноз в отношении выживаемости такой же, как и при воспалительном подтипе.

## ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ОПУХОЛИ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Известно, что колоректальный рак является гетерогенным заболеванием, возникающим в результате накопления молекулярно-генетических нарушений. Blank A. показал, что опухоли с одинаковой морфологической картиной могут иметь разные молекулярно-генетические характеристики и, наоборот, опухоли со сходной молекулярной картиной могут отличаться по морфологическим признакам [64]. Более наглядно эти данные можно рассмотреть в исследованиях Цуканова А.С. и Shelygin Yu.A., где показано, что опухоли с G3 стадией дифференцировки встречаются у 50% больных с синдромом Линча, первичные опухоли которых характеризуются отсутствием отдалённых метастазов [65], а также при колоректальном раке с синхронным карциноматозом брюшины в 70% наблюдений [66]. Однако на молекулярно-генетическом уровне все опухоли при синдроме Линча характеризуются наличием микросателлитной нестабильности (MSI) и отсутствием соматической мутации в гене *BRAF* [65]. При карциноматозе брюшины все опухоли микросателлитностабильные (MSS) и в 23% случаев, имеют соматическую мутацию в гене *BRAF* [53]. Между первичной опухолью и её метастазами существует гетерогенность, причиной развития которой может быть химиотерапия. Например, Федянин М.Ю. отмечает, что такая неоднородность может возникать по онкогенам *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, что указывает на необходимость выполнения повторных биопсий с целью коррекции лечения [66]. Более того, согласно рассмотренной модели канцерогенеза – иерархиче-

ской, химиотерапия может влиять на раковые стволовые клетки, что, в свою очередь, может привести к делению и образованию опухолевых клеток с новыми молекулярно-генетическими характеристиками. В то же время важно понимать, что успешное проведение повторных молекулярно-генетических исследований соматических мутаций в опухоли не всегда возможно из-за прямого или косвенного влияния химио-, таргетной или лучевой терапии на структуру ДНК [67].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время можно утверждать, что в процессе метастазирования от опухоли могут отделяться клетки разных молекулярно-генетических подтипов. Многие исследователи все больше внимания уделяют раковым стволовым клеткам, так как именно для них труднее всего подобрать эффективную терапию. Видимо, это происходит из-за их схожести с нативными стволовыми клетками, а также их высокой пластичности. Во время диссеминации опухолевые клетки используют, так называемые, клетки-помощники (тромбоциты, нейтрофилы и др.), без которых цепь метастатических событий может прерваться. Важная роль в метастазировании отводится таким процессам, как эпителиально-мезенхимальный и мезенхимально-эпителиальный переходы, являющимся важными звеньями на этапах экстравазации и эксфолиации. Внутритропуховая гетерогенность, которая может существовать в первичной опухоли или возникнуть на этапе лечения, диктует необходимость проведения молекулярно-генетической диагностики с целью выбора или коррекции схем химиотерапии.

### УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Концепция и дизайн исследования: Шубин В.П., Цуканов А.С.

Сбор и обработка материала: Шубин В.П.

Написание текста: Шубин В.П., Сушков О.И.

Редактирование: Ачкасов С.И., Сушков О.И., Цуканов А.С.

### THE PARTICIPATION OF THE AUTHORS:

Concept and design of the study: Shubin V.P., Tsukanov A.S.

Collection and processing of the material: Shubin V.P.

Writing of the text: Shubin V., Sushkov O.I.

Editing: Achkasov S.I., Sushkov O.I., Tsukanov A.S.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Hugen N, Van de Velde CJH, De Wilt JHW. et al. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol.* 2014;25(3):651–657. DOI:10.1093/annonc/mdt591
2. Сушков О.И., Ачкасов С.И. Перитонеальный карциноматоз при

раке толстой кишки. Подходы к лечению (Обзор литературы). *Колопроктология.* 2016; №4(58),с.69-79.

3. Степанов И.В., Падеров Ю.М., Афанасьев С.Г. Перитонеальный карциноматоз. *Сибирский онкологический журнал.* 2014;№5,с.45-53.

4. Sampson JA. Implantation Peritoneal Carcinomatosis of Ovarian Origin. *Am J Pathol.* 1931;5(7):423-444.
5. Pretzsch E, Bösch F, Neumann J. et al. Mechanisms of Metastasis in Colorectal Cancer and Metastatic Organotropism: Hematogenous versus Peritoneal Spread. *J Oncol.* 2019;20191-13. DOI:10.1155/2019/7407190
6. Comings DE. A general theory of carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1973;70(12(I)):3324-3328. DOI:10.1073/pnas.70.12.3324
7. Чуркова М.Л., Костюкевич С.В. Эпителий слизистой оболочки толстой кишки в норме и при функциональных и воспалительных заболеваниях кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2018;№5,с.128-132.
8. Munro MJ, Wickremesekera SK, Peng L. et al. Cancer stem cells in colorectal cancer: A review. *J Clin Pathol.* 2018; 71(2):110-116. DOI:10.1136/jclinpath-2017-204739
9. Odoux C, Fohrer H, Hoppe T. et al. A stochastic model for cancer stem cell origin in metastatic colon cancer. *Cancer Res.* 2008; 68(17):6932-6941. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-5779
10. Luo C, Cen S, Ding G et al. Mucinous colorectal adenocarcinoma: Clinical pathology and treatment options. *Cancer Commun.* 2019; 39(1):13. DOI:10.1186/s40880-019-0361-0
11. Nozoe T, Anai H, Nasu S. et al. Clinicopathological characteristics of mucinous carcinoma of the colon and rectum. *J Surg Oncol.* 2000;75(2):103-107. DOI:10.1002/1096-9098(200010)75:2<103::AID-JSO6>3.0.CO;2-C
12. Spit M, Koo BK, Maurice MM. Tales from the crypt: Intestinal niche signals in tissue renewal, plasticity and cancer. *Open Biol.* 2018;8(9):180120. DOI:10.1098/rsob.180120
13. Schepers AG, Snippert HJ, Stange DE. et al. Lineage tracing reveals Lgr5+ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science.* 2012;337(6095):730-735. DOI:10.1126/science.1224676
14. Чердынцева Н.В., Литвяков Н.В., Денисов Е.В. Основные достижения в фундаментальной онкологии в 2012. *Практическая онкология.* 2013;№1(14),с.1-12.
15. Antoniou A, Hébrant A, Dom G et al. Cancer stem cells, a fuzzy evolving concept: A cell population or a cell property? *Cell Cycle.* 2013; 12(24):3743-3748. DOI:10.4161/cc.27305
16. He S, Zhou H, Zhu X. et al. Expression of Lgr5, a marker of intestinal stem cells, in colorectal cancer and its clinicopathological significance. *Biomed Pharmacother.* 2014;68(5):507-513. DOI:10.1016/j.biopha.2014.03.016
17. Takahashi H, Ishii H, Nishida N. et al. Significance of Lgr5+ve cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol.* 2011;18(4):1166-1174. DOI:10.1245/s10434-010-1373-9
18. Patriarca C, Macchi RM, Marschner AK. et al. Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: A short review. *Cancer Treat Rev.* 2012;38(1):68-75. DOI:10.1016/j.ctrv.2011.04.002
19. Okano M, Konno M, Kano Y. et al. Human colorectal CD24+ cancer stem cells are susceptible to epithelial-mesenchymal transition. *Int J Oncol.* 2014;45(2):575-580. DOI:10.3892/ijo.2014.2462
20. Thapa R, Wilson GD. The Importance of CD44 as a Stem Cell Biomarker and Therapeutic Target in Cancer. *Stem Cells Int.* 2016;20161-15. DOI:10.1155/2016/2087204
21. Huang R, Mo D, Wu J. et al. CD133 expression correlates with clinicopathologic features and poor prognosis of colorectal cancer patients: An updated meta-analysis of 37 studies. *Med (United States).* 2018;97(23):e10446. DOI:10.1097/MD.00000000000010446
22. Kemper K, Versloot M, Cameron K. et al. Mutations in the Ras-Raf axis underlie the prognostic value of CD133 in colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(11):3132-3141. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-11-3066
23. Weichert W, Knösel T, Bellach J. et al. ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. *J Clin Pathol.* 2004;57(11):1160-1164. DOI:10.1136/jcp.2004.016238
24. Smith NR, Davies PS, Levin TG. et al. Cell Adhesion Molecule CD166/ALCAM Functions Within the Crypt to Orchestrate Murine Intestinal Stem Cell Homeostasis. *Cmgh.* 2017;3(3):389-409. DOI:10.1016/j.jcmgh.2016.12.010
25. Liu Y, Yang Y, Xu H. et al. Implication of usp22 in the regulation of BMI-1, c-Myc, p16INK4a, p14ARF, and cyclin D2 expression in primary colorectal carcinomas. *Diagnostic Mol Pathol.* 2010;19(4):194-200. DOI:10.1097/PDM.0b013e3181e202f2
26. Tamura S, Isobe T, Ariyama H. et al. E-cadherin regulates proliferation of colorectal cancer stem cells through NANOG. *Oncol Rep.* 2018;40(2):693-703. DOI:10.3892/or.2018.6464
27. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S. et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumor growth in immunodeficient mice. *Nature.* 2007;445(7123):106-110. DOI:10.1038/nature05372
28. Zhou Y, Xia L, Wang H. et al. Cancer stem cells in progression of colorectal cancer. *Oncotarget.* 2018;9(70):33403-33415. DOI:10.18632/oncotarget.23607
29. Dallas NA, Xia L, Fan F. et al. Chemoresistant colorectal cancer cells, the cancer stem cell phenotype, and increased sensitivity to insulin-like growth factor-I receptor inhibition. *Cancer Res.* 2009;69(5):1951-1957. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-2023
30. Neumann J, Löhns L, Albertsmeier M. et al. Cancer Stem Cell Markers Are Associated with Distant Hematogenous Liver Metastases but Not with Peritoneal Carcinomatosis in Colorectal Cancer. *Cancer Invest.* 2015;33(8):354-360. DOI:10.3109/07357907.2015.1047507
31. De Sousa E Melo F, Kurtova AV, Harnoss JM. et al. A distinct role for Lgr5+ stem cells in primary and metastatic colon cancer. *Nature.* 2017;543(7647):676-680. DOI:10.1038/nature21713
32. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(3):178-196. DOI:10.1038/nrm3758
33. Gonzalez D.M., Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Sci Signal.* 2014;7(344):re8. DOI:10.1126/scisignal.2005189
34. Шубин В.П., Шельгин Ю.А., Сушков О.И. и соавт. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в развитии колоректального рака (обзор литературы). *Колoproктология.* 2018;№2(64),с.111-117.
35. Sugarbaker PH. Peritoneal carcinomatosis: natural history and rational therapeutic interventions using intraperitoneal chemotherapy. In: *Cancer treatment and research.* Springer {US},149-168.
36. Кайгородова Е.В. Циркулирующие опухолевые клетки: клиническое значение при раке молочной железы (обзор литературы). *Вестник РАМН.* 2017;№6(72),с.450-457. DOI: 10.15690/vramn833
37. Placke T, Örgel M, Schaller M. et al. Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res.* 2012;72(2):440-448. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-11-1872
38. Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell.* 2017;168(4):670-691. DOI:10.1016/j.cell.2016.11.037
39. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(2):123-134. DOI:10.1038/nrc3004
40. McDonald B, McAvoy EF, Lam F. et al. Interaction of CD44 and hyaluronan is the dominant mechanism for neutrophil sequestration in inflamed liver sinusoids. *J Exp Med.* 2008; 205(4):915-927. DOI:10.1084/jem.20071765
41. Senbanjo LT, Chellaiah MA. CD44: A multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells. *Front Cell Dev Biol.* 2017;5(MAR): DOI:10.3389/fcell.2017.00018
42. Nicolazzo C, Raimondi C, Gradilone A. et al. Circulating tumor cells in right- and left-sided colorectal cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1042. DOI:10.3390/cancers11081042
43. Kallergi G, Konstantinidis G, Markomanolaki H. et al. Apoptotic circulating tumor cells in early and metastatic breast cancer patients.



*Mol Cancer Ther.* 2013;12(9):1886–1895. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-12-1167

44. Frisch SM, Screaton RA. Anoikis mechanisms. *Curr Opin Cell Biol.* 2001;13(5):555–562. DOI:10.1016/S0955-0674(00)00251-9

45. Paoli P, Giannoni E, Chiarugi P. Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res.* 2013;1833(12):3481–3498. DOI:10.1016/j.bbamcr.2013.06.026

46. Bergin E, Levine JS, Koh JS. et al. Mouse proximal tubular cell-cell adhesion inhibits apoptosis by a cadherin-dependent mechanism. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2000;278(5 47-5):F758-F768. DOI:10.1152/ajprenal.2000.278.5.f758

47. Orford K, Orford CC, Byers SW. Exogenous expression of  $\beta$ -catenin regulates contact inhibition, anchorage-independent growth, anoikis, and radiation-induced cell cycle arrest. *J Cell Biol.* 1999;146(4):855–867. DOI:10.1083/jcb.146.4.855

48. Pei D, Shu X, Gassama-Diagne A. et al. Mesenchymal–epithelial transition in development and reprogramming. *Nat Cell Biol.* 2019;21(1):44–53. DOI:10.1038/s41556-018-0195-z

49. Takeda A, Stoeltzing O, Ahmad SA. et al. Role of angiogenesis in the development and growth of liver metastasis. *Ann Surg Oncol.* 2002;9(7):610–616. DOI:10.1007/bf02574475

50. Tischer E, Mitchell R, Hartman T et al. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem.* 1991;266(18):11947-11954.

51. Shahid S, Iman A, Matti U. et al. Fibrin Deposit on the Peritoneal Surface Serves as a Niche for Cancer Expansion in Carcinomatous Patients. *Neoplasia (United States).* 2019;21(11):1091–1101. DOI:10.1016/j.neo.2019.08.006

52. Shubin V.P., Ponomarenko A.A., Tsukanov A.S. et al. Heterogeneity in Colorectal Primary Tumor and Synchronous Liver Metastases. *Russ J Genet.* 2018;54(6):698–702.

53. Shelygin Yu.A., Pospekhova N.I., Shubin V.P. et al. Epithelial-Mesenchymal Transition and Somatic Alteration in Colorectal Cancer with and without Peritoneal Carcinomatosis. *Biomed Res Int.* 2014; 20141–7. DOI:10.1155/2014/629496

54. Pikoulis E, Margonis GA, Andreatos N. et al. Prognostic role of braf mutations in colorectal cancer/liver metastases. *Anticancer Res.* 2016;36(9):4805–4811. DOI:10.21873/anticancer.11040

55. Schirripa M, Biason P, Lonardi S. et al. Class 1, 2, and 3 BRAF-mutated metastatic colorectal cancer: A detailed clinical, pathologic, and molecular characterization. *Clin Cancer Res.* 2019;25(13):3954–3961. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-0311

56. Fujiyoshi K, Yamamoto G, Takenoya T. et al. Metastatic Pattern

of Stage IV Colorectal Cancer with High-Frequency Microsatellite Instability as a Prognostic Factor. *Anticancer Res.* 2017;37(1):239–247. DOI:10.21873/anticancer.11313

57. Marcuello M, Vymetalkova V, Neves RPL. et al. Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer. *Mol Aspects Med.* 2019;69107–122. DOI:10.1016/j.mam.2019.06.002

58. Ding Y, Li W, Wang K. et al. Perspectives of the Application of Liquid Biopsy in Colorectal Cancer. *Biomed Res Int.* 2020;2020. DOI:10.1155/2020/6843180

59. Bidard F-C, Kiavue N, Ychou M. et al. Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA Detection in Potentially Resectable Metastatic Colorectal Cancer: A Prospective Ancillary Study to the Unicancer Prodiges-14 Trial. *Cells.* 2019;8(6):516. DOI:10.3390/cells8060516

60. Шубин В.П., Шельгин Ю.А., Ачкасов С.И. и соавт. Поиск мутаций гена KRAS в циркулирующей опухолевой ДНК при колоректальном раке разных стадий. *Вопросы онкологии.* 2019;№5(65),с.701–707.

61. Osumi H, Shinozaki E, Takeda Y. et al. Clinical relevance of circulating tumor DNA assessed through deep sequencing in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Med.* 2019;8(1):408–417. DOI:10.1002/cam4.1913

62. Hardingham JE, Kotasek D, Sage RE. et al. Detection of circulating tumor cells in colorectal cancer by immunobead-PCR is a sensitive prognostic marker for relapse of disease. *Mol Med.* 1995;1(7):789–794. DOI:10.1007/bf03401893

63. Sadanandam AA, Lyssiotis CA, Homicisko K. et al. Colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med.* 2013;5(19):619-25. DOI: 10.1038/nm.3175

64. Blank A, Roberts DE, Dawson H. et al. Tumor heterogeneity in primary colorectal cancer and corresponding metastases. Does the apple fall far from the tree? *Front Med.* 2018;5(AUG): DOI:10.3389/fmed.2018.00234

65. Цуканов А.С., Поспехова Н.И., Шубин В.П. и соавт. Клинико-генетические особенности российских пациентов с синдромом Линча. *Молекулярная медицина.* 2015;№1,с.24–28.

66. Федянин М.Ю., Строгонова А.М., Сендерович А.И. и соавт. Изучение конкордантности мутационного статуса генов KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA между первичной опухолью и метастазами рака толстой кишки. *Злокачественные опухоли.* 2017;№2,с.6–13.

67. Woods D., Turchi JJ. Chemotherapy induced DNA damage response Convergence of drugs and pathways. *Cancer Biol Ther.* 2013;14(5):379–389. DOI:10.4161/cbt.23761

## REFERENCES

1. Hugen N, Van de Velde CJH, De Wilt JHW. et al. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol.* 2014;25(3):651–657. DOI:10.1093/annonc/mdt591

2. Sushkov O.I., Achkasov S.I. Peritoneal colorectal carcinomatosis. Approaches to treatment (Review). *Koloproctologia.* 2016; no.4(58), pp.69–79. (in Russ.).

3. Stepanov I.V., Paderov Yu.M., Afanasyev S.G. Peritoneal carcinomatosis. *Siberian journal of oncology.* 2014; no.5,pp.45–53. (in Russ.).

4. Sampson JA. Implantation Peritoneal Carcinomatosis of Ovarian Origin. *Am J Pathol.* 1931;5(7):423–444.

5. Pretzsch E, Bösch F, Neumann J. et al. Mechanisms of Metastasis in Colorectal Cancer and Metastatic Organotropism: Hematogenous versus Peritoneal Spread. *J Oncol.* 2019;20191–13. DOI:10.1155/2019/7407190

6. Comings DE. A general theory of carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1973;70(12(I)):3324–3328. DOI:10.1073/pnas.70.12.3324

7. Churkova ML, Kostyukevich SV. The epithelium mucosal of colon in normal and in functional and inflammatory bowel diseases. *Experimental*

*and Clinical Gastroenterology.* 2018; no.5,pp.128–132. (in Russ.).

8. Munro MJ, Wickremesekera SK, Peng L. et al. Cancer stem cells in colorectal cancer: A review. *J Clin Pathol.* 2018; 71(2):110–116. DOI:10.1136/jclinpath-2017-204739

9. Odoux C, Fohrer H, Hoppe T. et al. A stochastic model for cancer stem cell origin in metastatic colon cancer. *Cancer Res.* 2008; 68(17):6932–6941. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-5779

10. Luo C, Cen S, Ding G et al. Mucinous colorectal adenocarcinoma: Clinical pathology and treatment options. *Cancer Commun.* 2019; 39(1):13. DOI:10.1186/s40880-019-0361-0

11. Nozoe T, Anai H, Nasu S. et al. Clinicopathological characteristics of mucinous carcinoma of the colon and rectum. *J Surg Oncol.* 2000;75(2):103–107. DOI:10.1002/1096-9098(200010)75:2<103::AID-JSO6>3.0.CO;2-C

12. Spit M, Koo BK, Maurice MM. Tales from the crypt: Intestinal niche signals in tissue renewal, plasticity and cancer. *Open Biol.* 2018;8(9):180120. DOI:10.1098/rsob.180120

13. Schepers AG, Snippert HJ, Stange DE. et al. Lineage tracing



- reveals Lgr5+ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science*. 2012;337(6095):730–735. DOI:10.1126/science.1224676
14. Cherdyntseva N.V., Lityakov N.V., Denisov E.V. Major achievements in fundamental oncology in 2012. *Practical oncology*. 2013; no.1(14), pp.1-12. (in Russ.).
  15. Antoniou A, Hébrant A, Dom G et al. Cancer stem cells, a fuzzy evolving concept: A cell population or a cell property? *Cell Cycle*. 2013; 12(24):3743–3748. DOI:10.4161/cc.27305
  16. He S, Zhou H, Zhu X. et al. Expression of Lgr5, a marker of intestinal stem cells, in colorectal cancer and its clinicopathological significance. *Biomed Pharmacother*. 2014;68(5):507–513. DOI:10.1016/j.biopha.2014.03.016
  17. Takahashi H, Ishii H, Nishida N. et al. Significance of Lgr5+ve cancer stem cells in the colon and rectum. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(4):1166–1174. DOI:10.1245/s10434-010-1373-9
  18. Patriarca C, Macchi RM, Marschner AK. et al. Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: A short review. *Cancer Treat Rev*. 2012;38(1):68–75. DOI:10.1016/j.ctrv.2011.04.002
  19. Okano M, Konno M, Kano Y. et al. Human colorectal CD24+ cancer stem cells are susceptible to epithelial-mesenchymal transition. *Int J Oncol*. 2014;45(2):575–580. DOI:10.3892/ijo.2014.2462
  20. Thapa R, Wilson GD. The Importance of CD44 as a Stem Cell Biomarker and Therapeutic Target in Cancer. *Stem Cells Int*. 2016;20161–15. DOI:10.1155/2016/2087204
  21. Huang R, Mo D, Wu J. et al. CD133 expression correlates with clinicopathologic features and poor prognosis of colorectal cancer patients: An updated meta-analysis of 37 studies. *Med (United States)*. 2018;97(23):e10446. DOI:10.1097/MD.00000000000010446
  22. Kemper K, Versloot M, Cameron K. et al. Mutations in the Ras-Raf axis underlie the prognostic value of CD133 in colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(11):3132–3141. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-11-3066
  23. Weichert W, Knösel T, Bellach J. et al. ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. *J Clin Pathol*. 2004;57(11):1160–1164. DOI:10.1136/jcp.2004.016238
  24. Smith NR, Davies PS, Levin TG. et al. Cell Adhesion Molecule CD166/ALCAM Functions Within the Crypt to Orchestrate Murine Intestinal Stem Cell Homeostasis. *Cmgh*. 2017;3(3):389–409. DOI:10.1016/j.jcmgh.2016.12.010
  25. Liu Y, Yang Y, Xu H. et al. Implication of usp22 in the regulation of BMI-1, c-Myc, p16INK4a, p14ARF, and cyclin D2 expression in primary colorectal carcinomas. *Diagnostic Mol Pathol*. 2010;19(4):194–200. DOI:10.1097/PDM.0b013e3181e202f2
  26. Tamura S, Isobe T, Ariyama H. et al. E-cadherin regulates proliferation of colorectal cancer stem cells through NANOG. *Oncol Rep*. 2018;40(2):693–703. DOI:10.3892/or.2018.6464
  27. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S. et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumor growth in immunodeficient mice. *Nature*. 2007;445(7123):106–110. DOI:10.1038/nature05372
  28. Zhou Y, Xia L, Wang H. et al. Cancer stem cells in progression of colorectal cancer. *Oncotarget*. 2018;9(70):33403–33415. DOI:10.18632/oncotarget.23607
  29. Dallas NA, Xia L, Fan F. et al. Chemoresistant colorectal cancer cells, the cancer stem cell phenotype, and increased sensitivity to insulin-like growth factor-I receptor inhibition. *Cancer Res*. 2009;69(5):1951–1957. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-2023
  30. Neumann J, Löhns L, Albertsmeier M. et al. Cancer Stem Cell Markers Are Associated with Distant Hematogenous Liver Metastases but Not with Peritoneal Carcinomatosis in Colorectal Cancer. *Cancer Invest*. 2015;33(8):354–360. DOI:10.3109/07357907.2015.1047507
  31. De Sousa E Melo F, Kurtova AV, Harnoss JM. et al. A distinct role for Lgr5 + stem cells in primary and metastatic colon cancer. *Nature*. 2017;543(7647):676–680. DOI:10.1038/nature21713
  32. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(3):178–196. DOI:10.1038/nrm3758
  33. Gonzalez D.M., Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Sci Signal*. 2014;7(344):re8. DOI:10.1126/scisignal.2005189
  34. Shubin V.P., Shelygin Yu.A., Shushkov O.I. et al. The role of the epithelially-mesenchymal transition in the development of colorectal cancer (Review). *Koloproctologia*. 2018; no.2(64),pp.111-117. (in Russ.).
  35. Sugarbaker PH. Peritoneal carcinomatosis: natural history and rational therapeutic interventions using intraperitoneal chemotherapy. In: *Cancer treatment and research*. Springer [US],149–168.
  36. Kaigorodova E. V. Circulating tumor cells: Clinical significance in breast cancer (review). *Vestn Ross Akad Meditsinskikh Nauk*. 2017;72(6):450–457. DOI:10.15690/vramn833
  37. Placke T, Örgel M, Schaller M. et al. Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res*. 2012;72(2):440–448. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-11-1872
  38. Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell*. 2017;168(4):670–691. DOI:10.1016/j.cell.2016.11.037
  39. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(2):123–134. DOI:10.1038/nrc3004
  40. McDonald B, McAvoy EF, Lam F. et al. Interaction of CD44 and hyaluronan is the dominant mechanism for neutrophil sequestration in inflamed liver sinusoids. *J Exp Med*. 2008; 205(4):915–927. DOI:10.1084/jem.20071765
  41. Senbanjo LT, Chellaiah MA. CD44: A multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells. *Front Cell Dev Biol*. 2017;5(MAR): DOI:10.3389/fcell.2017.00018
  42. Nicolazzo C, Raimondi C, Gradilone A. et al. Circulating tumor cells in right-and left-sided colorectal cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(8):1042. DOI:10.3390/cancers11081042
  43. Kallergi G, Konstantinidis G, Markomanolaki H. et al. Apoptotic circulating tumor cells in early and metastatic breast cancer patients. *Mol Cancer Ther*. 2013;12(9):1886–1895. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-12-1167
  44. Frisch SM, Screaton RA. Anoikis mechanisms. *Curr Opin Cell Biol*. 2001;13(5):555–562. DOI:10.1016/S0955-0674(00)00251-9
  45. Paoli P, Giannoni E, Chiarugi P. Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2013;1833(12):3481–3498. DOI:10.1016/j.bbamcr.2013.06.026
  46. Bergin E, Levine JS, Koh JS. et al. Mouse proximal tubular cell-cell adhesion inhibits apoptosis by a cadherin-dependent mechanism. *Am J Physiol - Ren Physiol*. 2000;278(5 47-5):F758-F768. DOI:10.1152/ajprenal.2000.278.5.f758
  47. Orford K, Orford CC, Byers SW. Exogenous expression of  $\beta$ -catenin regulates contact inhibition, anchorage-independent growth, anoikis, and radiation-induced cell cycle arrest. *J Cell Biol*. 1999;146(4):855–867. DOI:10.1083/jcb.146.4.855
  48. Pei D, Shu X, Gassama-Diagne A. et al. Mesenchymal-epithelial transition in development and reprogramming. *Nat Cell Biol*. 2019;21(1):44–53. DOI:10.1038/s41556-018-0195-z
  49. Takeda A, Stoeltzing O, Ahmad SA. et al. Role of angiogenesis in the development and growth of liver metastasis. *Ann Surg Oncol*. 2002;9(7):610–616. DOI:10.1007/bf02574475
  50. Fischer E, Mitchell R, Hartman T et al. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem*. 1991;266(18):11947–11954.
  51. Shahid S, Iman A, Matti U. et al. Fibrin Deposit on the Peritoneal Surface Serves as a Niche for Cancer Expansion in Carcinomatosis Patients. *Neoplasia (United States)*. 2019;21(11):1091–1101. DOI:10.1016/j.neo.2019.08.006
  52. Shubin V.P., Ponomarenko A.A., Tsukanov A.S. et al. Heterogeneity

- in Colorectal Primary Tumor and Synchronous Liver Metastases. *Russ J Genet.* 2018;54(6):698–702.
53. Shelygin Yu.A., Pospekhova N.I., Shubin V.P. et al. Epithelial-Mesenchymal Transition and Somatic Alteration in Colorectal Cancer with and without Peritoneal Carcinomatosis. *Biomed Res Int.* 2014; 20141–7. DOI:10.1155/2014/629496
54. Pikoulis E, Margonis GA, Andreatos N. et al. Prognostic role of braf mutations in colorectal cancer liver metastases. *Anticancer Res.* 2016;36(9):4805–4811. DOI:10.21873/anticancer.11040
55. Schirripa M, Biason P, Lonardi S. et al. Class 1, 2, and 3 BRAF-mutated metastatic colorectal cancer: A detailed clinical, pathologic, and molecular characterization. *Clin Cancer Res.* 2019;25(13):3954–3961. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-0311
56. Fujiyoshi K, Yamamoto G, Takenoya T. et al. Metastatic Pattern of Stage IV Colorectal Cancer with High-Frequency Microsatellite Instability as a Prognostic Factor. *Anticancer Res.* 2017;37(1):239–247. DOI:10.21873/anticancer.11313
57. Marcuello M, Vymetalkova V, Neves RPL. et al. Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer. *Mol Aspects Med.* 2019;69:107–122. DOI:10.1016/j.mam.2019.06.002
58. Ding Y, Li W, Wang K. et al. Perspectives of the Application of Liquid Biopsy in Colorectal Cancer. *Biomed Res Int.* 2020;2020. DOI:10.1155/2020/6843180
59. Bidard F-C, Kiavue N, Ychou M. et al. Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA Detection in Potentially Resectable Metastatic Colorectal Cancer: A Prospective Ancillary Study to the Unicancer Prodigé-14 Trial. *Cells.* 2019;8(6):516. DOI:10.3390/cells8060516
60. Shubin V.P., Shelygin Yu.A., Achkasov S.I. et al. Investigation KRAS mutation in circulation tumor DNA in different stages of colorectal cancer. *Voprosy onkologii.* 2019;no.5(65), pp.701-707. (in Russ.).
61. Osumi H, Shinozaki E, Takeda Y. et al. Clinical relevance of circulating tumor DNA assessed through deep sequencing in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Med.* 2019;8(1):408–417. DOI:10.1002/cam4.1913
62. Hardingham JE, Kotasek D, Sage RE. et al. Detection of circulating tumor cells in colorectal cancer by immunobead-PCR is a sensitive prognostic marker for relapse of disease. *Mol Med.* 1995;1(7):789–794. DOI:10.1007/bf03401893
63. Sadanandam AA, Lyssiotis CA, Homicsko K. et al. Colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med.* 2013;5(19):619–25. DOI: 10.1038/nm.3175
64. Blank A, Roberts DE, Dawson H. et al. Tumor heterogeneity in primary colorectal cancer and corresponding metastases. Does the apple fall far from the tree? *Front Med.* 2018;5(AUG): DOI:10.3389/fmed.2018.00234
65. Tsukanov A.S., Pospekhova N.I., Shubin V.P. et al. Clinical and genetic characteristics of russian patients with lynch syndrome. *Molecular medicine.* 2015;no.1,pp.24-28.(in Russ.).
66. Fedyanin M.Y., Strogonova A.M., Senderovich A.I. et al. Concordance of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA mutation status between the primary tumor and metastases in patients with colorectal cancer. *Maligntumours.* 2017;v.2:6–13. (in Russ.)
67. Woods D, Turchi JJ. Chemotherapy induced DNA damage response Convergence of drugs and pathways. *Cancer Biol Ther.* 2013;14(5):379–389. DOI:10.4161/cbt.23761

## КУЛИКОВСКИЙ ВЛАДИМИР ФЕДОРОВИЧ



5 октября 2020 года на 71-м году жизни умер директор медицинского института НИУ «БелГУ», главный внештатный колопроктолог Белгородской области, заведующий колопроктологическим отделением БОКБ Святителя Иоасафа, заслуженный врач РФ, лауреат Государственных премий РФ Куликовский Владимир Федорович.

Владимир Федорович – выпускник лечебного факультета Курского медицинского института. 1980 году после окончания специальной клинической ординатуры по хирургии заведовал хирургическим отделением регионального госпиталя г. Габу Республики Гвинея-Бисау.

В 1992 году ему присвоена ученая степень кандидата медицинских наук, а в 1997 году он успешно защищает докторскую диссертацию.

С открытием колопроктологического отделения БОКБ Святителя Иоасафа возглавил его и колопроктологическую службу области в качестве главного колопроктолога. За большой вклад в развитие колопроктологической помощи населению региона он избран членом Правления Общероссийской общественной организации «Ассоциация колопроктологов России». Большую организаторскую и лечебную работу Владимир Фёдорович успешно сочетал с научной.

Имеет более 500 научных работ, 23 учебно-методических пособий, более 28 патентов и авторских свидетельств, 10 монографий. Под его руководством защищено 11 кандидатских и 6 докторских диссертации. Указом Президента Российской Федерации в 1996 году Владимиру Федоровичу Куликовскому присвоено звание «Заслуженный врач Российской Федерации». Владимир Федорович являлся членом редакционных советов журналов «Проблемы медицинской науки и образования», «Колопроктология», «Теоретическая и практическая медицина Российской академии медицинских наук», «Клиническая и экспериментальная медицина».

С 2002 по 2013 гг. возглавлял Белгородскую областную клиническую больницу Святителя Иоасафа. С 2003 года Владимир Федорович заведовал кафедрой госпитальной хирургии Белгородского государственного университета, а с 2013 года являлся директором медицинского института НИУ «БелГУ».

В 2007 году Указом Президента Российской Федерации награжден Орденом Дружбы, а также за огромный личный вклад в развитие здравоохранения Орденом им. М.В. Ломоносова I степени с «лентой». За заслуги и большой личный вклад в развитие отечественной медицины и здравоохранения Владимир Федорович награжден Орденом Н.И. Пирогова и Орденом Гиппократата.

Богатейший опыт, талант организатора и педагога, колоссальное трудолюбие, исключительная целеустремленность и высочайшее чувство ответственности являются достойным примером не только для молодых, но и опытных врачей.

Широкая эрудиция, профессиональное мастерство, доброжелательность и высокая культура общения, щедрые душевные качества и готовность всегда прийти на помощь, а также активная жизненная позициянискали Владимиру Федоровичу заслуженный авторитет и уважение не только среди больных и сотрудников областной больницы, медицинского института, но и медицинской общественности области и России.

Светлая память о Владимире Федоровиче навсегда останется у его коллег и учеников, и у всех, кому посчастливилось встретиться с ним на своем жизненном пути.

**Коллектив ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н.Рыжих» Минздрава России, сотрудники кафедры колопроктологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, члены Ассоциации колопроктологов России и редакция журнала «Колопроктология» выражают глубокое соболезнование родным и близким Владимира Федоровича.**





ЭНТИВИО®  
ЭНТИВИО®  
ЭНТИВИО®

СЕЛЕКТИВНОСТЬ  
РЕМИССИЯ  
СЕЙЧАС

**Торговое наименование:** Энтивио®. Рег. уд. №ЛП-003697. **Действующее вещество:** Ведолизумаб — 300 мг. **Лекарственная форма:** лиофилизат для приготовления концентрата для приготовления раствора для инфузий. **Показания к применению:** Язвенный колит. Пациенты со среднетяжелым или тяжелым активным язвенным колитом: с неадекватным ответом, неэффективностью лечения или непереносимостью одного или нескольких препаратов стандартной терапии; с неудовлетворительным ответом, утратой ответа или непереносимостью одного или нескольких ингибиторов фактора некроза опухоли-альфа. **Болезнь Крона.** Пациенты со среднетяжелой или тяжелой активной болезнью Крона: с неадекватным ответом, неэффективностью лечения или непереносимостью одного или нескольких препаратов стандартной терапии; с неудовлетворительным ответом, утратой ответа или непереносимостью одного или нескольких ингибиторов фактора некроза опухоли-альфа. **Способ применения и дозы:** схема лечения одинакова для язвенного колита и болезни Крона. Препарат Энтивио® 300 мг вводится пациентам в виде внутривенной инфузии в течение 30 минут, затем в той же дозе через 2 недели и через 6 недель после первого введения, и далее каждые 8 недель. В случае отсутствия терапевтического эффекта к 14-ой неделе у пациентов с язвенным колитом следует рассмотреть вопрос о целесообразности дальнейшего лечения. У пациентов с болезнью Крона с отсутствием клинического ответа на терапию, терапевтический эффект может быть достигнут с помощью введения препарата Энтивио® 300 мг на 10-ой неделе. При отсутствии признаков клинического ответа к 14-ой неделе у пациентов с болезнью Крона курс лечения следует прекратить. У пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона, у которых наблюдается снижение клинического ответа на лечение, терапевтический эффект может быть достигнут с помощью введения препарата Энтивио® 300 мг каждую 4-ую неделю. Если поддерживающая терапия прервана и возникает необходимость возобновить лечение, следует использовать режим дозирования с интервалом каждые 4 недели. **Полная информация по способу применения и дозам представлена в инструкции по медицинскому применению.** **Противопоказания:** детский возраст до 18 лет; гиперчувствительность к ведолизумабу или другим компонентам препарата; активная форма тяжелых инфекционных заболеваний, таких как туберкулез, сепсис, цитомегаловирусная инфекция, листериоз, и оппортунистические инфекции, такие как прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия. **Побочное действие.** Наиболее частые нежелательные реакции ( $\geq 1/10$ ): назофарингит, головная боль, артралгия. Частые нежелательные реакции ( $\geq 1/100$ ,  $< 1/10$ ): бронхит, гастроэнтерит, инфекции верхних дыхательных путей, грипп, синусит, фарингит, парестезия, гипертензия, боль в области ротоглотки, заложенность носа, кашель, анальный абсцесс, анальная трещина, тошнота, диспепсия, запор, вздутие живота, метеоризм, геморрой, сыпь, зуд, экзема, эритема, ночная потливость, акне, мышечные спазмы, боль в спине, мышечная слабость, утомляемость, боль в конечностях, пирексия. **Перечень всех побочных эффектов представлен в инструкции по медицинскому применению.** **Особые указания.** Перед началом лечения препаратом Энтивио® рекомендуется проведение вакцинации всех пациентов в соответствии с действующими рекомендациями по иммунизации. Препарат следует применять под строгим наблюдением квалифицированного медицинского персонала, способного осуществлять контроль реакций гиперчувствительности, включая анафилактическую реакцию. Пациенты должны находиться под строгим наблюдением во время инфузии и после ее завершения в течение двух часов для первых двух инфузий и примерно одного часа для последующих инфузий. **Перечень всех особых указаний представлен в инструкции по медицинскому применению.** Полная информация по препарату содержится в инструкции по медицинскому применению.

RU/EYV/0420/0027



ООО «Такеда Фармасьютикалс»  
ул. Усачева, 2, стр. 1, 119048, Москва, Россия  
Тел.: (495) 933 5511, факс: (495) 502 1625;  
www.takeda.com.ru

 ЭНТИВИО®  
ВЕДОЛИЗУМАБ | СЕЙЧАС

# ДЕТРАЛЕКС®



## СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ЗАБОЛЕВАНИЯМ ВЕН

### Краткая инструкция по медицинскому применению препарата Детралекс® 1000 мг

**Состав\*.** Очищенная микронизированная флавоноидная фракция 1000 мг: диосмин 900 мг (90%), флавоноиды в пересчете на гесперидин 100 мг (10%). **Показания к применению\*.** Терапия симптомов хронических заболеваний вен (устранение и облегчение симптомов). Терапия симптомов венозно-лимфатической недостаточности: боль, судороги нижних конечностей, ощущение тяжести и распирания в ногах, «усталость» ног. Терапия проявлений венозно-лимфатической недостаточности: отеки нижних конечностей, трофические изменения кожи и подкожной клетчатки, венозные трофические язвы. Симптоматическая терапия острого и хронического геморроя. **Способ применения и дозы\*.** Внутрь. Венозно-лимфатическая недостаточность — 1000 мг в сутки, предпочтительно утром, во время приема пищи. Острый геморрой — до 3000 мг в сутки. Хронический геморрой — 1000 мг в сутки. **Противопоказания\*.** Повышенная чувствительность к активным компонентам или вспомогательным веществам, входящим в состав препарата. Не рекомендуется прием препарата кормящим женщинам. **Особые указания\*.** При обострении геморроя назначение препарата Детралекс® не заменяет специфического лечения других анальных нарушений. Если симптомы не исчезают после рекомендуемого курса терапии, следует пройти осмотр у проктолога, который подберет дальнейшую терапию. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами\*.** Не отмечалось. **Беременность\*.** До настоящего времени не было сообщений о нежелательных эффектах при применении препарата беременными женщинами. **Кормление грудью\*.** Не рекомендуется прием препарата. **Влияние на способность управлять автомобилем и выполнять работы, требующие высокой скорости психических и физических реакций\*.** Побочное действие\*. *Часто:* диарея, диспепсия, тошнота, рвота. *Нечасто:* колит. *Редко:* головокружение, головная боль, общее недомогание, сыпь, зуд, крапивница. *Неуточненной частоты:* боль в животе, изолированный отек лица, губ, век. В исключительных случаях — ангионевротический отек. **Передозировка\*.** **Фармакологические свойства\*.** Детралекс® обладает венотонизирующим и ангиопротективным свойствами. Препарат уменьшает растяжимость вен и венозный застой, снижает проницаемость капилляров и повышает их резистентность. **Форма выпуска\*.** Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 1000 мг (блистер) 10x3/6, 9x3 (пачка картонная). Суспензия для приема внутрь, 1000 мг/10 мл. По 15 или 30 саше (пачка картонная). **Номер регистрационного удостоверения:** ЛП-003635, ЛП-004247.

### Краткая инструкция по медицинскому применению препарата Детрагель®

**Состав\*.** Гепарин натрия 100,0 МЕ, эссенциальные фосфолипиды 10,0 мг, эсцин 10,0 мг. **Показания к применению\*.** Терапия симптомов хронических заболеваний вен. Варикозная болезнь с симптоматикой в виде боли, отеков, ощущения тяжести и усталости в ногах, ночных судорог икроножных мышц и с признаками в виде телеангиоэктазий (сосудистые звездочки и сеточки) и варикозных вен. Поверхностный флебит, тромбоз флебита. Гематомы при травмах, включая спортивные растяжения и ушибы. Послеоперационные гематомы без нарушения целостности кожных покровов. **Способ применения и дозы\*.** Наружно. Гель наносит тонким слоем на проблемный участок кожи и равномерно распределяют легкими массирующими движениями: 2-3 раза в сутки ежедневно до исчезновения симптомов. Продолжительность лечения — не более 15 дней. Возможность проведения более длительного курса лечения определяется врачом. **Противопоказания\*.** Гиперчувствительность к компонентам препарата, геморрагический диатез (в т.ч. тромбоцитопеническая пурпура), гемофилия, нарушение целостности кожных покровов в месте нанесения препарата (открытые раны, язвенно-некротические поражения), ожоги, экзема, кожные инфекции. **Противопоказан к применению на слизистых.** Возраст до 18 лет. **Особые указания\*.** Нанесение геля на слизистые оболочки противопоказано. Избегать попадания в глаза. При развитии аллергических реакций немедленно прекратить применение препарата и обратиться к врачу. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами\*.** Нельзя наносить на кожу одновременно с другими лекарственными препаратами для наружного применения. **Беременность\* и период кормления грудью\*.** До настоящего времени не было сообщений о нежелательных эффектах в отношении матери и плода при применении препарата беременными женщинами. Применение во время беременности и в период лактации возможно только в тех случаях, когда ожидаемая польза терапии для матери превышает потенциальный риск для плода, поэтому перед применением препарата следует проконсультироваться с врачом. **Влияние на способность управлять автомобилем и выполнять работы, требующие высокой скорости психических и физических реакций\*.** Исследований по изучению влияния препарата на способность водить автомобиль и управлять механизмами не проводилось. **Побочное действие\*.** *Очень редко:* контактный дерматит, крапивница, кожная сыпь, кожный зуд, бронхоспазм. При местном применении эсцина сообщалось о единичных случаях развития острых анафилактических реакций. **Передозировка\*.** **Фармакологические свойства\*.** Комбинированный препарат, оказывает местное антикоагулянтное, противовоспалительное, венотонизирующее и антиагрегантное действие, снижает проницаемость вен, улучшает микроциркуляцию. **Форма выпуска\*.** Гель для наружного применения. **Номер регистрационного удостоверения:** ЛП-001044.

\*Для получения полной информации, пожалуйста, обратитесь к инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата или получите консультацию специалиста.

АО «Сервье»: 125196, г. Москва, ул. Лесная, д. 7. Тел.: (495) 937-0700, факс: (495) 937-0701

