

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ
ЦЕНТР КОЛОПРОКТОЛОГИИ ИМЕНИ А.Н. РЫЖИХ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Сайфутдинова Карина Рафисовна

Обоснование внутрибрюшной химиотерапии при хирургическом лечении рака
ободочной кишки сТ4

3.1.9 – Хирургия

3.1.6 – Онкология, лучевая терапия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

академик РАН, профессор

Шельгин Юрий Анатольевич

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список использованных сокращений.....	4
Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы.....	12
1.1 Эпидемиология колоректального рака.....	12
1.2 Патогенез перитонеального карциноматоза при колоректальном раке.....	12
1.3 Трудности диагностики перитонеального карциноматоза.....	14
1.4 Классификация перитонеального карциноматоза.....	17
1.5 Современные подходы к лечению перитонеального карциноматоза.....	19
1.6 Факторы риска развития перитонеального карциноматоза у больных раком ободочной кишки.....	20
1.7 Профилактика развития перитонеального карциноматоза.....	23
1.8 Маркеры опухолевых клеток.....	29
Глава 2. Пациенты и методы.....	40
2.1 Дизайн исследования.....	40
2.2 Критерии включения.....	41
2.3 Критерии невключения.....	41
2.4. Критерии исключения.....	42
2.5 Клиническая диагностика заболевания.....	42
2.6 Характеристика больных.....	54
2.7 Подготовка больных к операции и осуществление перитонеальных смывов.....	61
2.8 Выбор препарата для проведения внутрибрюшной химиотерапии.....	63
2.9 Методы статистического анализа.....	63
Глава 3. Результаты исследования.....	66
3.1 Уровни экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток.....	66
3.2. Взаимосвязь экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток у больных раком ободочной кишки с клинико-морфологическими характеристиками колоректального рака.....	76

3.3 Частота и структура послеоперационных осложнений у пациентов исследуемых групп.....	80
3.4 Факторы, ассоциированные с развитием осложнений.....	84
3.5 Анализ общей и безрецидивной выживаемости, частоты и структуры рецидивов.....	88
Заключение	97
Выводы.....	108
Практические рекомендации.....	110
Список литературы.....	111

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБХТ – внутрибрюшная химиотерапия

ДИ – доверительный интервал

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИМТ – индекс массы тела

КРР – колоректальный рак

КТ – компьютерная томография

ЛУ – лимфатические узлы

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОР – отношение рисков

ОШ – отношение шансов

ОПО – операции повторного осмотра

ПК – перитонеальный карциноматоз

ПКИ – перитонеальный карциноматозный индекс

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

ПЭТ-КТ – позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с КТ

СОК – свободные опухолевые клетки

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

Классификация ASA (American Society of Anesthesiologists) – классификация физического статуса пациентов Американского общества анестезиологов

Шкала ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) – физический статус пациентов по шкале Восточной кооперативной группы исследования рака

ВВЕДЕНИЕ

В структуре общей онкологической заболеваемости в 2020 году рак ободочной кишки занял 4 место, составив 6% всех локализаций злокачественных новообразований [2]. В том же году в России было выявлено 36075 больных раком ободочной кишки, из которых у 27,3% диагностирована IV стадия заболевания [2]. Брюшина является третьей по распространённости локализацией метастазирования у пациентов с колоректальным раком (КРР), частота поражения брюшины достигает 25% всех случаев отдаленных метастазов [39, 124]. Существует взаимосвязь между величиной перитонеального карциноматозного индекса (ПКИ) – показателя, характеризующего распространённость перитонеального карциноматоза (ПК), и выживаемостью. По данным Сушкова О.И. (2019), медиана безрецидивной выживаемости для пациентов, ПКИ которых был менее 3 баллов, достигала 17 месяцев, а при ПКИ более 10 баллов составляла лишь 10 месяцев ($p=0,025$) [3]. Данное обстоятельство указывает на необходимость выявления и лечения ПК на начальной стадии, а также на поиск и создание превентивных мер по его развитию. Рядом авторов было продемонстрировано, что индекс прорастания опухолью кишечной стенки T4 ассоциирован с развитием ПК [54, 121, 138, 146].

В качестве профилактической меры перитонеальной диссеминации рассматривается интра- или ранняя послеоперационная внутрибрюшная химиотерапия (ВБХТ) [53, 98]. Однако в большинстве представленных в настоящий момент в научной литературе исследованиях оценивались факторы риска развития ПК, в том числе и наличие единичных перитонеальных депозитов, что не позволяет полноценно оценить эффект ВБХТ и обоснованно рекомендовать ее применение в широкой практике. Более того, те немногочисленные работы, в которых изолированно рассматривается индекс прорастания кишечной стенки T4, как фактор высокого риска развития ПК, демонстрируют разнородные данные.

Результаты ожидаемого многими онкохирургами мультицентрового

рандомизированного исследования COLOPEC по определению эффективности проведения ВБХТ при местно-распространенном раке ободочной кишки, в том числе осложненном перфорацией, подвергли сомнению целесообразность применения данного метода у этой группы пациентов. Так, авторы установили, что безрецидивная выживаемость в отношении карциноматоза за период наблюдения 18 месяцев составила 80,9% (95% ДИ: 73,3–88,5) и 76,2% (95% ДИ: 68,0–84,4) в группе ВБХТ и контрольной группе, соответственно, при отсутствии статистически значимых различий по этому параметру ($p=0,28$) [81]. В то же время Li T. и соавт. в 2020 г. получили противоположные результаты. В их работе оценивалась эффективность выполнения профилактической ВБХТ у 352 больных с глубиной инвазии кишечной стенки T4. Показатели одно- и трехлетней безрецидивной выживаемости в группе ВБХТ составили 93,3% и 61,1% против 89,3% и 51,7% в контрольной группе, где ВБХТ не проводилась, соответственно ($p=0,038$) [98].

По данным исследования Тотикова М.З. (2005) свободные опухолевые клетки (СОК) в брюшной полости были выявлены у 14,6% больных с прорастанием опухоли серозной оболочки и в 37,7% наблюдений при местно-распространенном раке ободочной кишки [4]. Сразу следует отметить, что в данной работе в качестве диагностического метода обнаружения свободных опухолевых клеток использовался цитологический метод исследования мазков отпечатков серозной оболочки кишки в проекции опухоли. Данный метод имеет серьезный ограничивающий момент – низкую специфичность (до 35%), более того он не позволяет оценить метастатический потенциал вышеописанных клеток [52, 60, 77, 117].

Учитывая вышеизложенное, не вызывает сомнений актуальность и необходимость проведения проспективного сравнительного исследования, оценивающего эффективность и целесообразность проведения ВБХТ у больных раком ободочной кишки T4.

Объект исследования.

Больные раком ободочной кишки с инвазией опухолью серозной оболочки или распространением на соседние органы или структуры, которым планируется оперативное лечение.

Цель исследования.

Обосновать эффективность проведения внутрибрюшной химиотерапии при раке ободочной кишки у пациентов с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки сT4.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние внутрибрюшной химиотерапии на уровни экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток в перитонеальных смывах.

2. Изучить взаимосвязь между иммунологическими характеристиками свободных опухолевых клеток и клинико-морфологическими характеристиками колоректального рака.

3. Изучить влияние внутрибрюшной химиотерапии на частоту развития послеоперационных осложнений, сроки послеоперационного пребывания в стационаре.

4. Провести анализ факторов риска развития осложнений.

5. Оценить общую и безрецидивную выживаемость, частоту развития рецидивов заболевания у пациентов анализируемых групп.

Научная новизна.

Впервые проведено проспективное сравнительное исследование, оценивающее эффективность ВБХТ у больных раком ободочной кишки с глубиной инвазии кишечной стенки T4 путем оценки жизнеспособности и уровня экспрессии маркеров интраперитонеальных свободных опухолевых клеток методом проточной цитометрии с иммунофенотипированием.

Принимая во внимание новизну методики определения интраперитонеальных СОК, а также факт, что исследование позволило продемонстрировать механизм и эффект влияния ВБХТ на СОК, его следует считать законченным. Проспективный тип исследования и используемый метод

детекции СОК из перитонеального лаважа позволяют утверждать о высокой достоверности и уникальности полученных результатов.

Практическая значимость работы.

Результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что под воздействием ВБХТ происходит подавление функционального потенциала интраперитонеальных свободных опухолевых клеток, заключающееся в снижении экспрессии маркеров CD133, CD24, CD26.

Проведение ВБХТ является безопасным и не увеличивает частоту осложнений и длительность госпитализации.

Положения, выносимые на защиту:

1. Проведение ВБХТ у больных раком ободочной кишки с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки T4 позволяет уменьшить пролиферативный потенциал и туморогенность интраперитонеальных свободных опухолевых клеток в перитонеальных смывах.

2. Проведение интраоперационной ВБХТ не приводит к увеличению частоты послеоперационных осложнений и длительности госпитализации по сравнению с больными, которым выполнялось только хирургическое лечение.

3. Мужской пол (ОШ=5,28, 95% ДИ: 3,45–8,08, $p=0,0001$), наличие заболеваний сердечно-сосудистой системы (ОШ=2,25, 95% ДИ: 1,39–3,65, $p=0,001$), заболеваний органов дыхания (ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$), отдаленных метастазов (ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$), перифокального воспаления (ОШ=3,04, 95% ДИ: 2,14–4,31, $p=0,0001$), локализация опухоли в левой половине ободочной кишки (ОШ=1,53, 95% ДИ: 1,15–2,04, $p=0,003$) ассоциированы с развитием осложнений при проведении ВБХТ.

4. Показатели двухлетней безрецидивной выживаемости в группе ВБХТ и контрольной группе не различаются, составив 81,6% и 78,8%, соответственно ($p=0,99$).

Внедрение результатов исследования в практику.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты используются в

практической деятельности клинических отделений ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России.

Доклады и публикации.

Основные результаты проведенной работы доложены на IX Конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» 20 апреля 2018 г., г. Москва.

Результаты исследования представлены в 5 печатных работах, опубликованных в периодических журналах, рекомендуемых ВАК для публикаций материалов кандидатских и докторских диссертаций:

1. Шельгин Ю.А. Эффективность внутрибрюшной химиотерапии при раке ободочной кишки Т4 / Шельгин Ю.А., Сушков О.И., Сухина М.А., Сайфутдинова К.Р., Муратов И.И., Шахматов Д.Г., Ачкасов С.И. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2020 – №10. – С. 36-43. <https://doi.org/10.17116/hirurgia202010136>

2. Сайфутдинова К.Р. Профилактика карциноматоза при раке ободочной кишки/ Сайфутдинова К.Р., Сушков О.И., Ачкасов С.И. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2019 – №11. – С. 88-92. <https://doi.org/10.17116/hirurgia201911188>

3. Сушков О.И. Факторы прогноза выживаемости больных, оперированных по поводу перитонеального карциноматоза при раке толстой кишки / Сушков О.И., Шельгин Ю.А., Ачкасов С.И., Пономаренко А.А., Шубин В.П., Сайфутдинова К.Р. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2019 – №08 вып. 2. – С.16-23. <https://doi.org/10.17116/hirurgia201908216>

4. Шельгин Ю.А. Иммунофенотипирование свободных опухолевых клеток для ранней диагностики перитонеального карциноматоза при колоректальном раке / Шельгин Ю.А., Образцов И.В., Сухина М.А., Ачкасов С.И., Кашников В.Н., Сушков О.И., Сайфутдинова К.Р. // Колопроктология, 2019 – №18(1(67)). – С. 39-45. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2019-18-1-39-45>

5. Сушков О.И. Возможно ли имплантационное метастатическое поражение почки при колоректальном раке? / О.И. Сушков, М.С. Лихтер, О.А.

Майновская, К.Р. Сайфутдинова, Д.Г. Шахматов // Урология, 2018 – №6. – С.118-121. <https://doi.org/10.18565/urology.2018.6.118-121>

Исследование было зарегистрировано на сайте <https://clinicaltrials.gov> (идентификационный номер NCT03561948).

Апробация работы

Апробация работы состоялась 29 июля 2021 года на совместной научно-практической конференции сотрудников отдела онкопроктологии и отдела онкологии и хирургии ободочной кишки ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих». Протокол исследования № 13 был рассмотрен и утвержден на заседании комитета по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России 14 ноября 2017 года.

Соответствие паспорту специальности.

Диссертационная работа Сайфутдиновой К.Р. соответствует п.2 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и предупреждения хирургических заболеваний» и п.4 «Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику» паспорта специальности 3.1.9 Хирургия, поскольку включает оценку результатов хирургического лечения больных раком ободочной кишки.

Также, в исследовании проводился анализ эффективности внутрибрюшной химиотерапии у больных раком ободочной кишки, что соответствует п.4. «Дальнейшее развитие оперативных приемов с использованием всех достижений анестезиологии, реаниматологии и хирургии» паспорта специальности 3.1.6 Онкология, лучевая терапия.

Личный вклад автора.

Соискателем проведён обзор литературы по изучаемому вопросу, на основании чего была обоснована актуальность, разработан дизайн, сформулированы цель и задачи диссертационного исследования. Автор лично осуществлял сбор материала: обследование пациентов, разъяснительную беседу,

организацию и проведение процедуры взятия перитонеальных смывов, выполнение ВБХТ в основной группе, анализ лабораторных и инструментальных методов обследования, мониторинг послеоперационного периода. Диссертант участвовал в операциях в составе хирургической бригады, как в качестве ассистента, так и оператора. Далее автором была осуществлена статистическая обработка клинического материала, получены результаты, на основании которых сформулированы и изложены положения диссертационного исследования, выводы и практические рекомендации.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, изложена на 132 страницах машинописного текста в редакторе Microsoft Word 2013 для Windows, шрифтом Times New Roman кеглем 14 с полуторным интервалом. Настоящая работа включает 32 таблицы и 14 рисунков. Список литературы включает 6 отечественных и 178 зарубежных источников.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология колоректального рака

В настоящее время КРР занимает одно из ведущих мест среди злокачественных новообразований по показателю распространенности и смертности. При этом регистрируется неуклонный рост удельного веса рака толстой кишки в структуре онкологических заболеваний, как в нашей стране, так и во всем мире. По данным проекта GLOBOCAN в 2020 г. было выявлено 1800 725 новых случаев заболевания КРР, что составило 10% от всех локализаций злокачественных новообразований. Ожидается, что к 2040 году будет регистрироваться 3,08 млн. новых случаев заболевания КРР [147]. Несмотря на прогресс медицины, обусловленный развитием технологий и совершенствованием организации здравоохранения, чрезвычайно острой остается проблема ранней диагностики онкологических заболеваний, в том числе, рака толстой кишки. До настоящего времени выявление колоректального рака на ранней стадии отмечается в относительно небольшом проценте случаев, тогда как 26% пациентов обращается за помощью уже при четвертой стадии заболевания, когда имеются отдаленные метастазы [2]. Таким образом, наряду с проблемой скрининга колоректального рака и обнаружения начальных форм заболевания, вопросы раннего выявления и лечения метастатического рака толстой кишки имеют большое медицинское и социальное значение.

1.2. Патогенез перитонеального карциноматоза при колоректальном раке

В 2020 году в России было выявлено 36075 больных раком ободочной кишки, из которых у 27,3% диагностирована IV стадия заболевания [2]. Брюшина является третьей по распространённости локализацией метастазирования у пациентов с КРР, частота поражения брюшины при этом достигает 25% от всех случаев отдаленных метастазов [39, 124]. ПК – интраперитонеальная форма метастазирования колоректального рака. Медиана выживаемости больных с ПК при использовании системной химиотерапии

приближается к 20 месяцам, в то время как в отсутствии лечения составляет всего 6 месяцев [50, 82, 113].

Понимание механизма перитонеальной диссеминации играет ключевую роль в профилактике развития и раннем обнаружении ПК, а также выполнении циторедуктивных операций. Брюшина представляет собой полупроницаемую серозную оболочку, выстилающую брюшную полость (париетальный листок) и покрывающую внутренние органы (висцеральный листок). В норме существует перитонеально-плазматический или перитонеально-гематологический барьер, обеспечивающий транспорт веществ между кровью и брюшиной. Он состоит из пяти слоев. Эндотелиальные клетки, формирующие интраваскулярное пространство капилляров и содержащие гликокаликс, и анионы, не пропускающие большие молекулы белков, например, альбумин, составляют первый слой. Мембрана, на которой расположены эндотелиальные клетки, формирует второй слой. Интерстициальное пространство является третьим слоем и содержит фибробласты, коллаген и гиалуроновую кислоту. Четвертый слой представлен субмезотелиальной базальной мембраной. Пятый слой состоит из мезотелиоцитов, связанных плотными межклеточными контактами и продуцирующими гликозаминогликаны в брюшную полость.

Механизм развития карциноматоза брюшины напрямую связан с эксфолиацией в брюшную полость свободных опухолевых клеток, присутствующих на серозных поверхностях до операции, либо обсеменением брюшины во время хирургических манипуляций. Существуют два механизма перитонеальной диссеминации: трансмезотелиальный и транслимфатический [180]. Трансмезотелиальный путь реализуется путем фиксации свободных опухолевых клеток к мезотелию. Большая часть СОК, прикрепленных к мезотелиоцитам, погибает вследствие плотного межклеточного контакта между клетками и наличия перитонеально-гематологического барьера. Однако, как только СОК прикрепляются к мезотелиоцитам при помощи рецепторов адгезии, таких как CD44, цитокины при помощи фосфорилирования клеточного

цитоскелета позволяют им проникнуть в субмезотелиальное пространство и, экспрессируя интегрины, фиксироваться к мембране [178]. В дальнейшем СОК образуют факторы подвижности и протеиназы для разрушения перитонеально-гематологического барьера и, проникая в брюшину, продуцируют факторы роста сосудов, которые вызывают неоваскуляризацию в предбрюшинном пространстве, в результате чего нарушается вышеописанный барьер, и создаются условия для развития опухолевых депозитов [179].

При транслимфатическом пути диссеминации СОК пролиферируют и мигрируют в лимфатические щели, сообщающиеся с субмезотелиальным лимфатическим пространством. Подобные отверстия распределены по брюшине неравномерно: большая их часть расположена в большом сальнике, аппендиксе, жировых подвесках ободочной кишки, диафрагме, серповидной связке печени, пространстве Дугласа и брыжейке тонкой кишки, что объясняет большую частоту поражения этих органов при перитонеальной диссеминации, тогда как меньшее число этих щелей обнаруживается на серозной поверхности тонкой кишки, капсуле селезенки.

1.3. Трудности диагностики ПК

Оценить распространенность ПК при КРР сложно в связи с отсутствием специфичной кинической симптоматики и низкой чувствительностью инструментальных методов обследования [82]. ПК часто манифестирует такими симптомами как абдоминальный дискомфорт, тошнота, потеря веса, кахексия, повышенная утомляемость, характерными не только для онкологических заболеваний. При этом, у большинства больных эта симптоматика может превалировать над кишечной, наличие которой закономерно у больного КРР. Лишь при увеличении объема интраабдоминальных опухолевых эксфолиантов возможно развитие кишечной непроходимости и выраженной формы асцита [82].

Ультразвуковое исследование (УЗИ) играет ограниченную роль в диагностике ПК, поскольку позволяет лишь идентифицировать асцит и крупные

поверхностные опухолевые узлы. Данный метод можно применять при первичной оценке пациента с болью в животе или пальпируемой опухолью. УЗИ играет важную роль в оценке выраженности асцита, выполнении лапароцентеза и диагностике послеоперационных осложнений [66].

Компьютерная томография (КТ) является предпочтительным методом визуализации ПК благодаря широкой доступности, высокому разрешению, скорости выполнения и интерпретации исследования. Во время пятого международного семинара по злокачественным новообразованиям брюшины был достигнут консенсус в отношении КТ как основного метода визуализации для отбора пациентов на циторедуктивную хирургию [172]. КТ-признаками ПК могут быть: усиление сигнала и утолщение складок брюшины, асцит, утолщение или деформация брыжейки, сальника, перитонеальные депозиты, лимфаденопатия, кальцификация [83]. Авторы сообщают, что чувствительность КТ в отношении ПК составляет 25–100%, а специфичность 78–100% [31, 48, 107, 115]. Такой разброс в показателях чувствительности зависит от двух обстоятельств: размера и локализации опухолевых узлов. Так, Marin D. и соавт. (2010) сообщили о 43% чувствительности для образований размером менее 5 мм, 87% – для образований 5 мм – 5 см и 100% для образований более 5 см [107].

Чувствительность КТ составляет 11–48% при локализации опухолевых депозитов в корне брыжейки, малом сальнике, левом куполе диафрагмы, серозной поверхности толстой кишки [19, 104, 107, 115].

Laghi A. и соавт., проанализировав 943 пациента с ПК, установили, что чувствительность КТ в отношении выявления ПК составила 83% (95% ДИ: 79–86), а чувствительность – 86% (95% ДИ: 82–89). Проведенный анализ установил уровень корреляции между перитонеальным карциноматозным индексом, установленным на основании результатов компьютерной томографии (КТ-ПКИ) и интраоперационным ПКИ – он колеблется от 0,49 до 0,96. Дополнительно авторы произвели оценку чувствительности диагностической ценности КТ по областям. Ими было установлено, что наибольшая чувствительность КТ

обнаружена в эпигастрии и полости таза – 78% (95% ДИ: 64–92) и 74% (95% ДИ: 64–83), соответственно. Специфичность данного метода также напрямую зависела от локализации перитонеальных депозитов. Так, она была выше в верхнем правом квадранте, области тонкой кишки, варьируя от 91 до 95%, в области таза – 76% (95% ДИ: 64–89) [88].

Уточняющим методом диагностики ПК является магнитно-резонансная томография (МРТ) поскольку она, в отличие от КТ, позволяет оценить образования размером менее 1 см, располагающиеся в сложных для визуализации областях (брыжейка, поддиафрагмальное пространство, серозная поверхность толстой кишки), что достигается путем использования T1 и T2-взвешенных режимов. По сравнению с обычным режимом исследования, диффузионно-взвешенная МРТ позволяет повысить чувствительность и специфичность в отношении выявления ПК до 90% и 95,5%, соответственно [51].

Длительное время сканирования, наличие противопоказаний, восприимчивость к артефактам, высокая стоимость исследования ограничивают использование вышеописанного метода как основного в визуализации ПК.

Другим не менее информативным лучевым методом диагностики ПК и отдаленных метастазов является позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с КТ (ПЭТ-КТ). Она позволяет точно локализовать повышенную метаболическую активность, дифференцируя физиологическое поглощение радиофармпрепарата от патологических процессов. В метаанализе Chang M.C. и соавт. чувствительность и специфичность ПЭТ-КТ в отношении выявления ПК составила 72,4% (95% ДИ: 64,4–79,5) и 96,7% (95% ДИ: 94,4–98,3), соответственно. Положительное отношение правдоподобия было 10,4 (95% ДИ: 6,2–17,5), в то время как отрицательное отношение правдоподобия – 0,3 (95% ДИ: 0,15–0,6). Значение площади под кривой было 0,94. Диагностическая точность данного метода составила 87,8% [23].

Несмотря на высокие чувствительность и специфичность, применение данного метода ограничено его высокой стоимостью и низкой доступностью.

Несмотря на то, что чувствительность лучевых методов диагностики (КТ) в определении ПК прямо коррелирует с размером опухолевых депозитов, рентгенологические методы остаются основными среди диагностических в связи с их неинвазивностью [107]. Наиболее информативными среди инвазивных методов являются лапароскопия и эксплоративная лапаротомия [19].

1.4. Классификация ПК

Для оценки распространенности ПК органов желудочно-кишечного тракта были предложены следующие системы её определения:

- 1) индекс оценки ПК по Gilly (Gilly's Peritoneal Carcinomatosis Staging);
- 2) упрощенный индекс перитонеального карциноматоза (Dutch Peritoneal Cancer Index-SPCI);
- 3) перитонеальный карциноматозный индекс (Sugarbaker's Peritoneal Cancer Index) [64].

Классификация Gilly была впервые представлена в 1994 г. Этот прогностический инструмент учитывает размер поражений, обнаруженных во время операции. Согласно этой классификации выделяют следующие стадии ПК: 0 – отсутствуют макроскопически определяемые опухолевые отсевы, 1 – опухолевые узлы менее 5 мм в диаметре в наибольшем измерении локализируются в одной области живота, 2 – опухолевые узлы менее 5 мм расположены диффузно по брюшной полости, 3 – опухолевые узлы от 5 мм до 2 см, 4 – опухолевые узлы более 2 см. [55]. Нельзя не отметить преимущества этой системы – её простоту и воспроизводимость. Однако, наряду с этим данная классификация дает лишь обобщающий характер перитонеальной диссеминации и не позволяет достоверно оценить резектабельность, поскольку при 4 стадии по этой классификации опухолевые узлы несмотря на их размер могут быть локализованы лишь в одной области живота.

Упрощенный перитонеальный карциноматозный индекс был разработан в онкологическом институте Нидерландов и применялся для оценки распространенности ПК при КРР и раке аппендикса. С целью оценки

перитонеальной диссеминации производился подсчет баллов, исходя из размера опухолевых узлов и их локализации. Для этого брюшная полость была разбита на 7 областей или регионов: I – область малого таза, II – правая нижняя часть живота, III – большой сальник, поперечная ободочная кишка, селезенка, IV – правая поддиафрагмальная область, V – левая поддиафрагмальная область, VI – подпеченочная и область малого сальника, VII – область тонкой кишки и ее брыжейки. При этом, эпигастральная область в этой классификации не обозначена, что может привести к ошибочной оценке резектабельности. Широкого распространения данная классификация не получила [120, 158, 167].

Наиболее распространенной и валидизированной является шкала Sugarbaker, которая учитывает ПКИ, рассчитывающийся как сумма баллов в зависимости от размера опухолевых очагов на брюшине и их расположения в каждой из 13 областей, на которые подразделяется брюшная и полость малого таза.

После адгезиолизиса и тщательной ревизии париетальной и висцеральной брюшины брюшной полости и малого таза производится оценка опухолевых узлов. Согласно их размеру (lesion size – LS) присваивается от 0 до 3 баллов. LS-0 – опухолевые узлы не определяются, LS-1 – размер опухолевых узлов менее 0,5 см, LS-2 – от 0,5 см до 5 см, LS-3 – узлы более 5 см, или сливные.

Величина ПКИ варьирует от 0 до 39 баллов [72]. Особенностью данной классификации является то, что она не учитывает глубину инвазии опухолевых узлов в подлежащие органы или структуры.

Исследование Burnett A. и соавт., продемонстрировало взаимосвязь между ПКИ и выживаемостью. Так, при ПКИ более 20 баллов медиана общей выживаемости составила 19 месяцев, а при ПКИ менее 20 баллов – 62 месяца ($p=0,00003$). В отношении безрецидивной выживаемости были получены следующие данные: медиана данного показателя была равна 19 месяцам при величине ПКИ более 20 баллов и 42 месяца при ПКИ менее 20 баллов ($p=0,016$) [20]. Данный факт свидетельствует о необходимости поиска превентивных мер

в отношении перитонеальной диссеминации.

1.5. Современные подходы к лечению ПК

Длительное время пациенты с ПК признавались инкурабельными. Медиана общей выживаемости у таких больных составляла около 6 месяцев при выполнении паллиативных вмешательств или системной химиотерапии [129]. Современные химиотерапевтические препараты наряду с таргетными позволили увеличить медиану данного показателя до 24 месяцев [113].

В то же время Sugarbaker P. в 1989 г. продемонстрировал новый подход к лечению ПК, заключающийся в сочетании циторедуктивной операции (ЦО) и ВБХТ у больных с ПК. ЦО направлены на максимально возможное удаление всех макроскопически определяемых опухолевых депозитов путем выполнения перитонэктомии с резекцией вовлеченных органов или структур [126]. Проведение ВБХТ позволяет применять более высокие дозы химиотерапевтического агента по сравнению с системным введением в связи с наличием перитонеально-плазматического барьера и, тем самым, осуществить непосредственный контакт цитотоксического препарата в высокой концентрации с опухолевыми клетками.

Sugarbaker P. описал 6 этапов выполнения перитонэктомии: удаление большого сальника с или без спленэктомии, тазовая перитонэктомия, удаление брюшины с правого купола диафрагмы и капсулы Глиссона, удаление брюшины с левого купола диафрагмы, удаление малого сальника с или без холецистэктомии, различные резекции вовлеченных органов и структур [145]. Для оценки полноты циторедукции используется шкала, предложенная P. Sugarbaker (Completeness of Cytoreduction Score). Определяющее значение в данном случае имеет размер резидуальных узлов по завершении оперативного вмешательства. Так, при степени СС-0 – в брюшной полости по окончании операции опухолевых узлов не определяется, при СС-1 – размер опухолевых депозитов составляет менее 2,5 мм. Циторедукция, соответствующая степеням

СС-0 и СС-1, оценивается как полная. При СС-2 диаметр узлов варьирует от 2,5 мм до 2,5 см, а при СС-3 размер опухолевых депозитов составляет более 2,5 см.

Для проведения ВБХТ при ПК есть ряд ключевых предпосылок. Это фармакокинетическое преимущество внутрибрюшного введения химиотерапевтических агентов, заключающееся в высоких региональных при низких системных концентрациях. Данное обстоятельство объясняется медленной скоростью движения лекарственного средства из брюшной полости в плазму (перитонеальный клиренс), что связано с наличием перитонеально-плазменного барьера, который поддерживает постоянный высокий градиент концентрации химиотерапевтического препарата между брюшной полостью и компартментом плазмы [47, 72]. Дополнительным преимуществом внутрибрюшного введения химиопрепарата является то, что отток крови с поверхности брюшины происходит через воротную вену в печень, обеспечивая эффект детоксикации и воздействие цитотоксических препаратов на потенциальные микрометастазы печени [143].

Аддитивным эффектом обладает локальная гипертермия диализата химиопрепарата благодаря увеличению цитотоксического эффекта последнего, а также повышению химиочувствительности опухоли. Гипертермия увеличивает проницаемость клеточной мембраны и сосудов, что приводит к усиленному проникновению химиопрепарата в СОК. Также повышенная температура влияет на внутриклеточное содержание некоторых ионов, таких как Ca^{2+} , что в свою очередь опосредует активацию сигнальных каскадов и приводит к гибели опухолевой клетки. Действие гипертермии на дезоксирибонуклеиновую кислоту проявляется прежде всего ее разрывами, обусловленными денатурацией и дисфункцией термолабильных репарационных белков [1, 7].

1.6. Факторы риска развития ПК у больных раком ободочной кишки

Поиск факторов риска развития перитонеальной диссеминации при КРР исследователями был продиктован необходимостью разработки мер профилактики ПК, местных рецидивов и отдаленных метастазов. Так, Sugarbaker

Р. выделил следующие факторы высокого риска развития ПК: наличие единичных перитонеальных депозитов, метастазов в яичники, наличие опухолевых клеток по данным цитологического исследования смывов из брюшной полости, перфорация кишки на уровне или проксимальнее опухоли, положительные края резекции, вовлечение соседних органов и структур, формирование кишечного свища из проекции опухоли, а также наличие опухоли, прорастающей все слои кишечной стенки и соответствующей критерию T4 [146].

Популяционное когортное шведское исследование, в которое было включено 11124 больных, перенесших операции по поводу КРР, продемонстрировало, что независимыми предикторами развития метастатического карциноматоза являются локализация опухоли в правых отделах ободочной кишки (OR=1,77, 95% ДИ: 1,31-2,39, p=0,002), индекс прорастания опухолью кишечной стенки T4 (OR=9,98, 95% ДИ: 3,10-32,11, p<0,001), метастатическое поражение более 4 лимфатических узлов при условии исследования патоморфологом не менее 12 (OR=7,41, 95% ДИ: 4,78-11,51, p<0,001), операция, выполненная по экстренным показаниям (OR=2,11, 95% ДИ: 1,66 – 2,69, p<0,001), нерадикально выполненная операция (R2) по поводу КРР (OR=2,75, 95% ДИ: 2,10-3,61, p<0,001). Пациенты, чей возраст составлял более 70 лет, имели меньший риск развития метастатического ПК (OR=0,69, 95% ДИ: 0,55–0,87, p=0,003) [138].

Augestad К.М. и соавт. на основании ретроспективного анализа 10398 пациентов с КРР из норвежского регистра, установили, что поражение лимфатических узлов, соответствующее индексу N2 (OR=5,45, p<0,001) и степень дифференцировки опухоли, определенная как умеренно-дифференцированная аденокарцинома, статистически значимо коррелируют с развитием перитонеальной диссеминации (OR=0,39, p = 0,02) [10].

В популяционном исследовании Lemmens V.Е. и соавт. показали, что риск развития ПК был выше у пациентов с КРР при полнослойном прорастании опухолью кишечной стенки (T4 vs T1,2: ОШ=4,7, 95% ДИ: 4,0–5,6), с наличием

метастатически пораженных лимфатических узлов (N0 vs N1,2: ОШ=0,2, 95% ДИ: 0,1–0,2), с низкодифференцированной аденокарциномой (низкодифференцированная vs недифференцированная: ОШ=2,1, 95% ДИ: 1,8–2,5), возрастом (<60 vs 70–79 лет: ОШ=1,4, 95% ДИ: 1,1–1,7) и расположением опухоли в правой половине ободочной кишки (левая vs правая половина ободочной кишки: ОШ =0,6, 95% ДИ: 0,5–0,7) [95].

Van Gestel Y.R и соавт. проанализировали результаты лечения 5671 больных из голландского регистра, перенесших лечение по поводу КРР без отдаленных метастазов с 2003 по 2008 г.г. У 197 (3,5%) пациентов был выявлен метакронный ПК. Авторами был проведен мультивариантный анализ предикторов перитонеальной диссеминации, который показал, что ПК чаще развивается при опухолях с индексом прорастания кишечной стенки T4 (T4 vs T3: ОР=1,93, 95% ДИ: 1,34–2,76), наличии метастатически пораженных узлов (N1 vs N0: ОР=2,46, 95% ДИ: 1,68–3,60, N2 vs N0: ОР=5,24, 95% ДИ: 3,41–8,06), слизистой аденокарциноме (ОР=1,83, 95% ДИ: 1,29–2,59), положительных границах резекции (ОР=2,93, 95% ДИ: 1,86–4,61) [54].

В 2020 году Ravn S. и соавт. опубликовали результаты когортного исследования, в котором были определены независимые факторы риска у больных КРР, ассоциированные с развитием ПК. Согласно мультивариантному анализу наличие опухоли с индексом прорастания кишечной стенки T4 увеличивает абсолютный риск перитонеальной диссеминации на 2,9% через 1 год и на 6,0% через 3 года. Также, поражение лимфатических узлов, соответствующее индексу N2, по данным этой работы ассоциировано с повышением абсолютного риска развития метакронного ПК – 2,5% и 4,3% через 1 и через 3 года, соответственно [121].

Таким образом, среди описанных в литературе факторов риска развития перитонеальной диссеминации можно выделить следующие: полнослойное прорастание опухолью кишечной стенки, метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов, низкая дифференцировка опухоли. Однако,

во всех представленных работах изучалось совокупное влияние всех факторов риска ПК, в том числе и наличие единичных перитонеальных депозитов, что не позволяет обосновать и предложить превентивные меры.

1.7. Профилактика развития ПК

Вопрос профилактики ПК у больных КРР до настоящего времени является предметом оживленных дискуссий и продолжающихся клинических исследований. Существует две стратегии лечения применительно к больным колоректальным раком с высоким риском развития перитонеальной диссеминации. Первая – это операции повторного осмотра (ОПО), дополненные выполнением циторедуктивных вмешательств и внутрибрюшной химиотерапией при выявлении карциноматоза. Вторая – это применение профилактической внутрибрюшной химиотерапии во время первичной операции [53].

Концепция ОПО была впервые описана Wangensteen O. в 1949 г. Она подразумевала под собой систематическое выполнение запланированных ревизий у пациентов без клинических проявлений заболевания, которые теоретически имели риск прогрессирования, несмотря на радикально выполненную первичную резекцию по поводу опухоли толстой кишки [165]. С именем Elias D. связано выполнение ОПО при ПК у больных КРР. Так, проспективное исследование, результаты которого были опубликованы в 2011 году, включало 41 больного с высоким риском развития ПК. Эти пациенты перенесли первичную резекцию толстой кишки по поводу рака и на момент операции у них уже имелись нижеперечисленные находки или их сочетание: единичные резектабельные перитонеальные депозиты, метастазы в яичники, перфорация кишки на уровне или выше опухоли, опухоль, прорастающая все слои кишечной стенки. ОПО выполнялись всем больным через 6 месяцев после окончания адьювантной химиотерапии. ПК при этом был выявлен у 56% (23/41) пациентов. Интервал между первичной операцией и ОПО составил $11,1 \pm 7,1$ мес. Больным с ПК были выполнены циторедуктивные операции с ВБХТ. При

медиане наблюдения 30 месяцев пятилетняя общая выживаемость составила 90%, а безрецидивная – 44%. Рецидив ПК после выполнения ОПО был отмечен у 7 (17%) больных. При унивариантном анализе было обнаружено, что выявление ПК при ОПО статистически значимо повышает риск рецидива ($p=0,006$) [42].

Во французском исследовании PROPHYLOCHIP (NTC01226394) 150 пациентов с факторами риска развития ПК по прошествии 6 месяцев после первичной резекции по поводу КРР и адъювантной химиотерапии были рандомизированы на 2 группы: основную, в которой выполняли ОПО, и при выявлении ПК – циторедуктивные операции с ВБХТ, и контрольную, в которой проводилось лишь динамическое наблюдение за больными. Авторы к факторам риска развития ПК отнесли: наличие единичных перитональных депозитов во время первичной операции, метастазы в яичники, перфорацию кишки на уровне или проксимальнее опухоли. В основной группе ПК был выявлен у 24 (32%), а в контрольной – у 25 (33%) больных. Трехлетняя безрецидивная выживаемость составила 44% в основной и 53% в контрольной группе, при этом полученные различия в показателях выживаемости были статистически незначимы ($p=0,8$). Показатели трехлетней общей выживаемости также статистически значимо не различались и составили 79% и 80% в основной и контрольной группах, соответственно. Авторы сделали вывод, что данная тактика, подразумевающая под собой выполнение ОПО, дополненных ЦО и ВБХТ у больных в случае выявления ПК, не продемонстрировала большей эффективности по сравнению со стандартным режимом наблюдения [58].

Безусловно, серьезным препятствием для широкого применения ОПО является инвазивность процедуры, что обуславливает ее ограниченное применение у соматически отягощенных больных. К примеру, пациенты, которым была выполнена ЦО с ВБХТ, имеют более высокий риск развития пневмонии – до 10% по данным ряда авторов [22, 36, 135, 144, 171]. Серьезную угрозу также представляет гематологическая токсичность. В мультицентровом французском исследовании, включившем 1290 больных из 25 лечебных

учреждений, осложнения со стороны кроветворной системы были отмечены в 13% наблюдений [56]. Дискутабельными также являются сроки выполнения ОПО у пациентов после первой клинически радикальной выполненной операции. Sugarbaker P. предположил, что максимальное время между первичной резекцией и ОПО составляет один год [146]. Данное предположение базируется на том, что выявление метакронного ПК при колоректальном раке варьирует в сроки от 11 до 18 месяцев [54, 134]. Однако, для установления оптимальных сроков выполнения ОПО необходимы дальнейшие рандомизированные исследования.

Профилактическая интра– или ранняя послеоперационная ВБХТ может быть другим вариантом профилактики карциноматоза у больных КРР. Sammartino P. и соавт. (2012) в проспективном нерандомизированном исследовании применяли этот подход у пациентов с опухолями толстой кишки, прорастающими все слои кишечной стенки при отсутствии отдаленных метастазов и ПК. В основной группе пациентов, у которых проводилась интраоперационная ВБХТ, была продемонстрирована более высокая медиана безрецидивной выживаемости по сравнению с контрольной группой, больным которой проводилось стандартное хирургическое вмешательство – 36,8 против 21,9 мес., соответственно ($p < 0,01$). Также было показано статистически значимое снижение частоты развития ПК в группе с ВБХТ – 4% против 22% ($p < 0,05$) [132].

Barrati D. и соавт. (2016) опубликовали результаты проспективного нерандомизированного исследования, целью которого было изучение влияния ВБХТ у пациентов с высоким риском развития метакронного ПК: наличие синхронных метастазов в яичники, единичных карциноматозных депозитов на брюшине, опухоли, прораставшей все слои кишечной стенки или в соседние органы/структуры. В основную группу были включены 22 пациента без отдаленных метастазов, которым проводилась ВБХТ после клинически радикальной операции с последующей адъювантной системной химиотерапией. Пациенты в контрольную группу подбирались ретроспективно в соотношении

1:2. Они перенесли лишь клинически радикальное вмешательство. Пятилетняя кумулятивная частота развития ПК составила 9,3% в основной и 42,5% в контрольной группах ($p=0,004$). Показатели пятилетней общей выживаемости были выше в основной группе по сравнению с контрольной – 81,3% против 70%, соответственно ($p=0,047$). При мультивариантном анализе было выявлено, что проведение ВБХТ коррелирует с более низкой кумулятивной частотой развития ПК (OR=0,04, 95% ДИ: 0,01–0,31, $p=0,002$), более высокими показателями общей (OR=0,25, 95% ДИ: 0,07–0,89, $p=0,039$) и безрецидивной (OR=0,31, 95 % ДИ: 0,11–0,85, $p=0,028$) выживаемости [13].

В 2019 г. были представлены результаты многоцентрового проспективного исследования COLOPEC, целью которого было выявление эффективности проведения ВБХТ у больных с местно-распространенным или осложненным перфорацией раком ободочной кишки в отсутствии отдаленных метастазов. В данную работу было включено 204 пациента, которых рандомизировали в 2 группы: основную, где операция дополнялась ВБХТ, и контрольную, в которой ВБХТ не проводилась. Авторы установили, что показатели безрецидивной выживаемости в отношении ПК за период наблюдения 18 месяцев составили 80,9% (95% ДИ: 73,3–88,5) и 76,2% (95% ДИ: 68,0–84,4) в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,28$) [81]. Возможно, долгосрочные результаты этого исследования смогут дать исчерпывающую информацию. Необходимо отметить, что в данной работе ВБХТ проводилась симультанно или через 5–8 недель после первичной операции, что несколько затрудняет оценку ее эффективности ввиду формирования спаек в брюшной полости и вероятной редукции химиотерапевтического воздействия на опухолевые клетки.

Li T. и соавт. ретроспективно оценили эффективность применения ВБХТ у больных раком ободочной кишки T4. Ими были получены различия в показателях безрецидивной выживаемости: одно- и трехлетняя безрецидивная выживаемость в группе ВБХТ составили 93,3% и 61,1% против 89,3% и 51,7% в контрольной группе, соответственно ($p=0,038$) [98]. Безусловно,

ретроспективный характер работы не исключает возможные ошибки распределения больных в группы. Небольшой период наблюдения за пациентами, в свою очередь, также мог повлиять на отдаленные результаты. Авторы в заключении отмечают, что для получения релевантных и репрезентативных данных необходимо проведение рандомизированных проспективных исследований. Ответить на вопрос об эффективности и целесообразности проведения ВБХТ у больных местно-распространенным раком ободочной кишки помогут результаты продолжающихся в настоящий момент исследований PROMENADE (NCT02974556), Clinical analysis of HIPEC for T4 colorectal cancer after surgery (NCT03221608) и HIPECT4 (NCT02614534) [8, 69, 133].

Тем не менее, применение в качестве меры профилактики развития ПК интра- или ранней послеоперационной ВБХТ представляется более привлекательным вариантом по сравнению с ОПО в связи с тем, что не требует проведения повторного инвазивного вмешательства на органах брюшной полости. В то же время трудность заключается в дооперационном определении пациентов с высоким риском развития ПК. Также следует принять к сведению, что в вышеописанных исследованиях рассматривались все факторы высокого риска развития ПК, в том числе и наличие единичных перитонеальных депозитов, что не позволяет полноценно оценить эффект ВБХТ и обоснованно рекомендовать ее применение в широкой практике. В дополнении к этому следует отметить, что стандартизованный протокол проведения ВБХТ в настоящий момент отсутствует. В представленных исследованиях разнятся данные по виду химиотерапевтических препаратов, срокам проведения, температуре диализата, способу введения его в брюшную полость.

Тотиков М.З. (2005) в своей диссертационной работе продемонстрировал эффективность проведения ВБХТ у больных раком ободочной кишки с индексом прорастания кишечной стенки T4 в качестве метода профилактики карциноматоза брюшины. Согласно его исследованию, проведение ВБХТ

позволяет увеличить трехлетнюю выживаемость на 8,5%, по сравнению с пациентами, которым было выполнено оперативное вмешательство с последующей ранней системной химиотерапией. Также было отмечено снижение частоты местных рецидивов: в основной группе их частота составила 1,3%, в то время как в контрольной – 5% [4]. Однако, для рационального и максимально эффективного использования ВБХТ, ее внедрения в схемы лечения пациентов с высоким риском развития ПК, недостаточно той описательной базы, которая накопилась за время проведения клинических испытаний. Необходимо продемонстрировать механизмы и эффекты ВБХТ не только на организменном, но и на клеточном уровне с использованием различных тестовых систем, современного аналитического оборудования, высокотехнологичных экспериментальных тестов и методов. Основной точкой приложения ВБХТ является действие на свободные опухолевые клетки брюшной полости. В исследовании Bosch В. и соавт. (2003) опухолевые клетки были выявлены в перитонеальных смывах в 25% наблюдений у пациентов с КРР I–III стадии. Мультивариантный анализ показал, что наличие свободных опухолевых клеток в брюшной полости является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении общей и безрецидивной выживаемости – $p=0,002$ и $p=0,006$, соответственно [18]. Bosanquet D. и соавт. (2013) в метаанализе, целью которого было определение влияния позитивных интраоперационных перитонеальных смывов на показатели выживаемости у пациентов с опухолями толстой кишки, выявили, что обнаружение СОК интраперитонеально является предиктором снижения показателей общей выживаемости (ОШ=4,26, 95% ДИ: 2,86-6,36, $p<0,001$), повышения риска развития, как ПК (ОШ=6,57, 95% ДИ: 2,30-18,79, $p<0,001$), так и местных рецидивов (ОШ=4,02, 95% ДИ: 2,24-7,22, $p<0,001$) [17].

Среди методов детекции свободных опухолевых клеток из перитонеального лаважа можно выделить следующие: цитологический, полимеразно-цепная реакция (ПЦР), иммунологический или радиоиммунологический [141]. При этом наиболее перспективным

представляется метод проточной цитометрии с последующим иммунофенотипированием опухолевых клеток, поскольку он позволяет точно выявить даже небольшие клеточные опухолевые популяции [5].

Метаанализ, выполненный коллективом авторов из Великобритании, продемонстрировал, что наличие опухолевых клеток в смывах из брюшной полости у больных КРР в отсутствии отдаленных метастазов является негативным прогностическим фактором. Показатели общей выживаемости были ниже у пациентов, в перитонеальных смывах которых определялись опухолевые клетки как перед операцией: 25,2% против 46,4% (ОШ = 0,41, 95% ДИ: 0,19–0,88, $p < 0,05$), так и после неё: 17,3% против 52,6% (ОШ=0,07, 95% ДИ: 0,03–0,18, $p < 0,05$). Частота развития местных рецидивов также была выше у больных с положительными смывами: 12,2% против 21,1% (ОШ=0,42, 95% ДИ: 0,21–0,82, $p < 0,05$). Таким образом, наличие интраперитонеальных свободных опухолевых клеток у больных раком толстой кишки связано с высоким риском развития местного рецидива, худшими показателями выживаемости и, как следствие, неблагоприятным прогнозом [122].

1.8. Маркеры опухолевых клеток

Наиболее часто определяемыми и хорошо изученными маркерами СОК являются CD44, CD133 [25, 29, 34, 37, 63], CD24, CD26 [28, 136, 157], CD184 (CXCR) [136]. Далее рассмотрим более подробно каждый из них.

CD44

CD44 представляет собой трансмембранный гликопротеин, участвующий во многих клеточных процессах, таких как рост, пролиферация, выживание, дифференцировка и подвижность [16, 73]. Кодированный его ген располагается на 11 хромосоме. Множественные изоформы CD44 могут генерироваться благодаря вставке альтернативных экзонов в специфические сайты внутри внеклеточного домена [30]. Вариантные изоформы CD44 (CD44v) включают экзон 6–15, сращенный в различных участках между экзонами 5 и 16 стандартной изоформы [183]. Экспрессия отдельных изоформ CD44 встречается при прогрессировании

опухолей человека [62, 162]. Экспрессия CD44v6 известна как один из маркеров прогрессирования и прогноза при колоректальном раке [170]. Экспрессия CD44v6 при колоректальном раке усиливается за счет экспрессии раковых стволовых клеток [153]. CD44 активирует и модулирует ряд сигнальных путей, которые играют важную роль в опосредовании опухолевых клеток, приводя к прогрессированию опухоли, метастазированию и резистентности к химиопрепаратам. Zhao S. и соавт. в своей работе показали, что CD44 играет роль в адаптивной пластичности раковых клеток [184]. Адаптивная пластичность раковых клеток – это термин, используемый для объяснения того, как происходят фенотипические изменения в ответ на микроокружение, которое обеспечивает раковым клеткам возможности избирательного роста и выживания. Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) является формой адаптивной пластичности. Это переход от эпителиального к мезенхимальному клеточному фенотипу, благодаря которому клетки демонстрируют повышение подвижности, вследствие чего становятся более инвазивными, и, как правило, более устойчивыми к апоптозу [106]. Основные изменения во время ЭМП сопровождаются потерей рецепторов эпителиальной адгезии, таких как E-кадгерин, окклюдин, клаудин и α -катенин, а также диссоциацией β -катенина из адгезивных соединений. В то же время наблюдается повышенная экспрессия молекул, связанных с мезенхимальным фенотипом, включая виментин, фибронектин, N-кадгерин и актин α -гладких мышц [57]. Это приводит к изменению формы клеток и апико-базальной полярности. В клетках рака толстой кишки мезенхимальный фенотип был связан с увеличением экспрессии CD44, которая подавляла экспрессию E-кадгерина, активировала N-кадгерин, α -актин, виментин, фибронектин и ингибировала образование комплекса E-кадгерин- β -катенин, что приводило к повышению способности к инвазии и миграции клеток. Снижение экспрессии CD44 демонстрировало заметное снижение миграции и инвазии, напротив, клетки с повышенной экспрессией CD44 демонстрировали повышенную миграционную и инвазивную способность [27].

CD44 играет незаменимую роль в защите раковых клеток от апоптоза. Роль CD44 в выживании клеток включает изменение множества молекул, которые регулируют пре- или антиапоптотические процессы, такие как экспрессия Fas (апоптотический антиген, член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли б), каспазы 3, фосфорилирование Akt (протеинкиназный сигнальный каскад), pRb (опухолевый супрессор) и активация антиапоптотического Bcl-2 [27, 89, 176]. Изоформы CD44 (CD44s, CD44v3-v10 и CD44v8-v10) линии клеток рака толстой кишки человека стимулировали устойчивость к индуцированному этопозидом апоптозу. Экспрессия Bcl-2 и каспазы-3 была повышена как в клетках, трансфицированных (клетках, в которые был введен материал, способный экспрессироваться) CD44s, так и в клетках CD44v [89]. Экспрессия CD44 в опухолевых клетках толстой кишки приводит к снижению экспрессии антиапоптотических молекул, таких как Bcl-2, Bcl-xL, и повышению уровня апоптотических молекул, таких как Bax (опухолевый супрессор), каспазы-3/8/9 [116]. Фосфорилирование Akt, p21 и pRb подавлялось в опухолевых клетках, трансфицированных CD44, после обработки этопозидом. Это говорит о том, что экспрессия CD 44 модулирует регуляторы клеточного цикла pRb и p21, а также белок Akt [89]. CD44 также способствует выживанию клеток посредством регуляции Fas в клетках рака. Связывание гиалуроновой кислоты с CD44 подавляло экспрессию Fas и уменьшало Fas-опосредованный апоптоз [176]. Комплекс CD44-гиалуроновая кислота активирует ErbB2-содержащий сигнальный каскад [24]. Следовательно, CD44 может обеспечивать механизм защиты раковых клеток от апоптоза.

Было показано, что при раке толстой кишки CD44v3 активирует инвазию и устойчивость к апоптозу, а CD44v6 ассоциируется с метастазированием опухоли и снижением безрецидивной выживаемости [85, 86]. Yamaguchi A. и соавт. показали, что изоформы CD44v8-10 играют роль в метастазировании колоректального рака и являются независимыми факторами для прогнозирования исходов у пациентов с колоректальным раком [169].

Li X. и соавт. (2013) в своем исследовании, включившем 57 больных с колоректальным раком, выявили, что частота экспрессии CD44 составила 66,7%, при этом она статистически значимо коррелировала с дифференцировкой опухоли и метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов ($p < 0,05$). Пятилетняя общая выживаемость пациентов, в опухолях которых была выявлена экспрессия CD4v6, составила 52,8% в отличие от больных, в опухоли которых экспрессия данного маркера не определялась, где она была на уровне 80,9% ($p < 0,005$) [99]. Метаанализ, включивший 48 исследований, продемонстрировал взаимосвязь между экспрессией CD44 и снижением медианы общей выживаемости (ОР=1,32, 95% ДИ: 1,08–1,61, $p=0,007$). Также была показана корреляция между экспрессией CD44 и такими клинико-морфологическими характеристиками как метастатически пораженные лимфатические узлы (ОШ=1,56, 95% ДИ: 1,01–2,41, $p=0,044$), наличие отдаленных метастазов (ОШ=2,90, 95% ДИ: 1,08–7,83, $p=0,035$), степень дифференцировки опухоли (ОШ=1,44, 95% ДИ: 1,00–2,08, $p=0,05$), размер опухоли (ОШ=1,71, 95% ДИ: 0,99–2,96, $p=0,05$). На основании данных метаанализа можно сделать вывод, что экспрессия CD44 может быть использована как неблагоприятный прогностический фактор у пациентов с КРР [164].

Об этом говорят и результаты исследования Nuh J.W. и соавт. (2009), в котором экспрессия CD44 в первичной опухоли и окружающих нормальных тканях слизистой оболочки толстой кишки была продемонстрирована в 100% (74/74) и 37,9% (28/74) случаях, соответственно [70]. Уровень экспрессии CD44 в опухоли коррелировал с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки ($p=0,034$) и поражением лимфатических узлов ($p=0,031$). Существенная разница наблюдалась между общей выживаемостью и уровнем экспрессии опухолевыми клетками CD44, особенно при КРР IV стадии ($p=0,038$). Многофакторный анализ показал, что стадия TNM ($p=0,020$) и экспрессия CD44 в опухоли ($p=0,008$) являлись независимыми предикторами общей выживаемости при КРР. Однако

необходимы дальнейшие исследования для оценки биологической роли CD44 при КРР [70].

CD133

CD133 (проминин-1) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 120 кДа и наиболее часто локализуется в мембране клеток [46]. Он был впервые обнаружен в нормальных гемопоэтических клетках человека в 1997 г. и может быть экспрессирован как одна из двух изоформ, CD133-1 и CD133-2 [177, 181]. Yin A. и соавт. (2002) впервые обнаружили, что CD133-1 в основном экспрессируется в печени, костном мозге и крови человека. Также было высказано предположение, что CD133-2 экспрессируется стволовыми клетками [182]. Основываясь на этих биологических характеристиках, CD133 широко используется для идентификации и выделения стволовых клеток и раковых стволовых клеток. В клетках колоректального рака CD133 локализуется на апикальных/эндолюминальных поверхностях и в цитоплазме [9, 84, 110, 177]. CD133 сконцентрирован в выпячиваниях плазматической мембраны [149], что позволяет предположить, что CD133 может играть роль в образовании межклеточных контактов. Клетки, экспрессирующие CD133 (CD133(+)), обладают повышенной способностью взаимодействовать с соседними опухолевыми фибробластами [43, 154], что указывает на то, что клетки CD133 (+) имеют выраженную способность к инвазии и туморогенность в сравнении с неэкспрессирующими CD133 клетками (CD133(-)). Кроме того, CD133 содержит ганглиозидсвязывающий домен на своем N-конце. Благодаря этому эпитопу некоторые ганглиозиды могут регулировать межклеточные контакты [92].

CD133 был обнаружен во многих опухолях, включая опухоли головного мозга, толстой кишки [136, 175], печени [105], поджелудочной железы [67], почек [173], легких [131], эндометрия [128], яичников [102] и костей [152]. В 2007 году O'Brien и соавт. [112] и Ricci L. и соавт. [123] обнаружили, что экспрессия клетками CD133 при раке толстой кишки способна инициировать рост опухоли. Эти два исследования демонстрируют, что CD133 является

маркером опухолевых клеток, основываясь на том, что клетки, экспрессирующие CD133, могут продуцировать опухоли со способностями к самоподдержанию и дифференцировке. Онкогенный потенциал клеток рака толстой кишки, экспрессирующих CD133, также был подтвержден *in vitro* [123]. Что еще более важно, клетки рака толстой кишки, не экспрессирующие CD133, не способны образовывать опухоли. Однако, Shmelkov S. и соавт. (2008) обнаружили, что CD133 экспрессируется в дифференцированном эпителии толстой кишки, а не только в стволовых клетках. Кроме того, *in vitro* субпопуляции метастатических опухолей, экспрессирующие CD133 и неэкспрессирующие CD133, образовывали сферы из колоноцитов. Обе субпопуляции поддерживали длительный онкогенез в клеточных моделях ксенотрансплантации NOD/SCID (мыши с диабетом без ожирения, иммунодефицит которых связан с отсутствием Т-, В- и НК-лимфоцитов) [140]. Экспрессия CD133 может модулироваться факторами микроокружения опухоли [174]. Кроме того, инактивация CD133 во время прогрессирования колоректального рака может считаться результатом репрессии транскрипции вследствие промоторного гиперметилирования участков CpG CD133 [74].

Было обнаружено, что некоторые сигнальные пути, включая Wnt, трансформирующий фактор роста-бета (TGF- β), сигнальные пути Notch и Hedgehog [127] и другие механизмы связаны с экспрессией CD133 при колоректальном раке. Путь Wnt играет важную роль в росте и поддержании опухолевых клеток [76]. В результате β -катенин накапливается в ядре, где он активирует гены-мишени с важными функциями в развитии колоректального рака [108]. Некоторые исследования подтвердили активацию пути Wnt в клетках, экспрессирующих CD133 [32, 35]. Путь TGF- β действует как путь подавления опухоли в здоровых тканях, но как промотор при раке прямой кишки [168]. Также сообщалось, что передача сигналов по пути Hedgehog, которая активна как в эпителиальных клетках рака толстой кишки, так и в CD133(+) стволовых опухолевых клетках, способствует росту опухоли толстой кишки,

самообновлению стволовых клеток и метастазированию при распространенных формах рака [155, 156] Кроме того, отмечено, что экспрессия CD133 регулируется онкогенными сигнальными путями Ras-Raf [78, 148], STAT3 [100], Akt, митоген-активируемой протеинкиназой [163], индуцируемым гипоксией фактором-1 α [130] и микроРНК [45].

В метаанализе Chen S. и соавт. была показана корреляция экспрессии клетками CD133 при КРР с такими показателями как выживаемость, поражение лимфатических узлов, индекс прорастания опухолью кишечной стенки, сосудистая инвазия. Авторы, проанализировав 15 исследований, выявили, что экспрессия клетками CD 133 являлась независимым негативным прогностическим фактором, коррелирующим с общей (OR=0,67, 95% ДИ 0,54–0,82, $p<0,01$) и безрецидивной выживаемостью (OR=0,71, 95% ДИ 0,52–0,96, $p=0,03$). Также, авторы установили, что высокая экспрессия маркера CD133 коррелировала с глубиной инвазии кишечной стенки T3, T4 (OR=1,12, 95% ДИ 1,01–1,23, $p=0,03$), поражением лимфатических узлов (OR=1,31, 95% ДИ 1,06–1,63, $p=0,01$), сосудистой инвазией (OR=1,24, 95% ДИ 1,08–1,41, $p<0,01$). На основании вышеизложенного авторы делают вывод, что экспрессия клетками CD133 является достоверным фактором негативного прогноза при КРР [26].

Ассоциация экспрессии опухолевыми клетками CD133 с такими факторами, как метастатическое поражение лимфатических узлов ($p=0,013$) и низкая степень дифференцировки ($p=0,043$) была продемонстрирована в работе Wang В. и соавт (2016). Мультивариантный Cox-анализ показал, что глубина инвазии опухолью ($p=0,032$), стадия ($p=0,011$), метастазы в лимфатических узлах ($p=0,001$) и экспрессия CD133 ($p=0,002$) являются неблагоприятными факторами выживаемости [161].

Ряд авторов предполагает, что клетки CD133(+) имеют признаки, сходные с характеристиками свободных опухолевых клеток, такими как инициация опухоли, пролиферация, инвазия, дифференцировка и способность к самообновлению [33, 46, 71]. Были предложены дополнительные маркеры для

выявления СОК и оценки их клинической значимости при колоректальном раке. Эти маркеры включают CD44 [25, 29, 34, 37, 63], CD166 [44, 157], CD29 [44, 91, 157], CD24 [28, 136, 157], CXCR4 [136]. Использование комбинации этих маркеров для идентификации СОК при колоректальном раке позволит с большей уверенностью утверждать, что клетка является опухолевой.

CD26

CD26 – дипептидилпептидаза IV (DPPIV) – представляет собой гликопротеин на клеточной поверхности размером 110 кДа с множеством функций и широко экспрессируется в большинстве типов клеток, включая Т-лимфоциты, эндотелиальные и эпителиальные клетки. Он также состоит из трансмембранного участка и короткого цитоплазматического домена. Карбоксиконцевой внеклеточный домен CD26 регулирует активность ряда цитокинов и хемокинов путем удаления N-концевого дипептида из полипептидов с пролином или аланином [109, 150]. CD26 был продемонстрирован как лиганд по связыванию с фибронектином и коллагеном в различных экспериментах [14, 103, 118]. CD26 взаимодействует с коллагенами I и III типа и фибронектином, которые протеолизуют, способствуют миграции, инвазии и метастазированию опухолевых клеток [59, 65, 114, 137].

Pang R. и соавт. продемонстрировали, что субпопуляция клеток CD26+ была связана с развитием отдаленных метастазов при колоректальном раке путем связывания с компонентами внеклеточного матрикса, такими как фибронектин и коллаген и регулирование экспрессии маркеров ЭМП [114]. Помимо его экспрессии на поверхности опухолевых клеток, одна из форм CD26 (sCD 26) также присутствует в жидкостях организма, таких как сыворотка, и ее уровни коррелируют с прогнозом для некоторых видов рака. Уровни CD26 в сыворотке были предложены в качестве раннего диагноза и прогностического маркера колоректального рака [11]. Высокие уровни циркулирующего CD26 были выявлены у пациентов с КРР с отдаленными метастазами [87]. Эти исследования показали, что CD26 является потенциальным биомаркером для

диагностики и прогноза КРР. CD26 был идентифицирован как дополнительный маркер свободных опухолевых клеток, коэкспрессируемый на клетках колоректального рака CD133(+) [61, 114]. Кроме того, CD26 был описан как маркер клеточной субпопуляции, ответственный за метастазирование при колоректальном раке. Клетки, экспрессирующие CD26, демонстрируют низкие уровни экспрессии кадгерина и высокую экспрессию N-кадгерина, фибронектина и виментина. Lam C. и соавт. в своей работе показали, что экспрессия CD26 была выше у пациентов с КРР и отдаленными метастазами ($p < 0,001$). Также статистически значимые различия имеются и в показателях пятилетней общей выживаемости: у пациентов с экспрессией CD26 отмечены более низкие значения – 66% против 78% ($p < 0,001$) [90].

CD24

CD24 представляет собой маркер клеточной поверхности с одноцепочечным сиалогликопротеином и молекулярной массой 24 кДа, экспрессируемый во многих солидных опухолях [28]. CD24 является небольшим белком, состоящим из 27 аминокислот, которые гликозилированы определенным методом и связаны с клеточной мембраной посредством фосфоатидилинозитола, играющего роль в передаче внеклеточных сообщений внутри клеток. CD24 экспрессируется у 50,5% пациентов с КРР [111]. Согласно метаанализу Lee J. и соавт. экспрессия CD24 чаще обнаруживалась в карциномах толстой кишки по сравнению с аденомами (ОШ=4,21, 95% ДИ: 1,826–9,731, $p=0,001$) и статистически значимо коррелировала с наличием метастазов в лимфатических узлах (ОШ=2,41, 95% ДИ: 1,013–5,720, $p=0,047$), распространенностью первичной опухоли (ОШ=1,59, 95% ДИ: 1,244–2,032, $p < 0,001$) сокращением общей выживаемости (ОР=2,13, 95% ДИ: 1,656–2,730, $p < 0,001$) [93]. Seo K. и соавт. при мультивариантном анализе выявили, что экспрессия CD24 является негативным прогностическим фактором безрецидивной выживаемости у пациентов с КРР (ОР 3,768, 95% ДИ: 1,077–13,185, $p=0,038$) [139].

CD184

CD184 (CXCR 4) является важным фактором адгезии и миграции опухолевых клеток. CD184 высоко экспрессируется в различных типах опухолей, что связано с хемотаксисом, инвазией, ангиогенезом и пролиферацией независимо от их специфических гистологических результатов. В настоящее время считается, что рецептор-лигандная ось CXCL12-CXCR4 является ключевым механизмом инвазии опухоли и метастазирования. После специфического связывания CXCL12 с CXCR4 в опухолевых клетках активируются различные сигнальные пути, что играет важную роль в инвазии опухоли, прогрессии и метастазировании, а также коррелирует с выживаемостью, метастазированием и рецидивом [80, 97, 101]. Метаанализ, выполненный Jiang и соавт. и включивший 24 исследования, выявил, что экспрессия CXCR4 является предиктором неблагоприятного исхода у больных КРР (OR=2,21, 95% ДИ: 1,56–3,14, p=0,001).

У пациентов с высоким уровнем экспрессии CXCR4 в опухолях толстой кишки было отмечено значительное снижение общей выживаемости – 9 против 23 месяцев (OR=2,53, 95% ДИ: 1,19 -5,40, p=0,0) [79].

Таким образом, выявление СОК с помощью их маркеров активно используется в настоящее время для изучения этих клеток, прогностического значения их экспрессии в различных опухолях. Однако, ввиду отсутствия четкого понимания функции маркеров опухолевых клеток, представляется затруднительным высказаться о возможности применения их в клинической практике. Немаловажен тот факт, что ПК следует рассматривать как локорегиональный процесс метастазирования и его развитие связано с наличием СОК в брюшной полости. Понимание механизмов и эффектов, наличие доказательной базы применения ВБХТ в качестве меры профилактики развития и лечения ПК будет залогом рационального использования противоопухолевых препаратов в терапии пациентов со злокачественными новообразованиями и достижения максимального лечебного эффекта при минимальной токсичности. Вышеизложенное иллюстрирует актуальность и говорит о необходимости

проведения проспективных исследований с целью изучения механизмов и эффектов внутрибрюшной химиотерапии у больных КРР с высоким риском развития ПК, а именно наличием опухолей, прорастающих все слои кишечной стенки или распространяющихся на соседние органы или структуры.

Глава 2. ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

В период с ноября 2017 по август 2020 г.г. в ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России было проведено одноцентровое сравнительное проспективное исследование, целью которого было обосновать эффективность проведения внутрибрюшной химиотерапии при раке ободочной кишки у пациентов, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которого на предоперационном этапе была определена как сТ4. Работа осуществлена на базе отделов онкологии и хирургии ободочной кишки и онкопроктологии. Пациентам обеих групп выполнялось оперативное вмешательство в соответствии с принципами онкологического радикализма.

У всех пациентов исследуемых групп после осуществления операционного доступа и интраоперационной ревизии брюшной полости выполнялось ее орошение одним литром 0,9% водного раствора NaCl. После экспозиции раствора в течение 5 минут перитонеальный смыв аспирировали, далее подвергали анализу с применением методики проточной цитофлуометрии с иммунофенотипированием. У больных основной группы после завершения хирургического вмешательства проводили ВБХТ закрытым способом. С этой целью в ушитую брюшную полость через дренажные трубки вводился диализат Митомицина С из расчета 20 мг/м² поверхности тела, подогретый до 42° С с последующей экспозицией на 2 часа. После эвакуации диализата Митомицина С из брюшной полости осуществлялось ее орошение 1 литром 0,9% раствора NaCl. Промывная жидкость использовалась для второго иммунологического исследования.

В контрольной группе ВБХТ после хирургического вмешательства не проводилась, а второй перитонеальный смыв для иммунологического исследования получали тем же способом, что в основной группе (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Блок схема исследования

2.2. Критерии включения

1. Рак ободочной кишки в стадии заболевания (восьмая версия международной классификации TNM) cT4N0-2M0-1b на основании данных предоперационного обследования.
2. Гистологически верифицированная аденокарцинома ободочной кишки.
3. Подписанное информированное согласие.
4. Возраст старше 18 лет.
5. Статус ECOG < 2.
6. Физическое состояние по шкале ASA ≤ 3

2.3. Критерии невключения.

1. Беременность или период лактации.
2. Наличие синхронных или метасинхронных злокачественных опухолей других локализаций.
3. Перитонеальный карциноматоз, нерезектабельные внебрюшинные метастазы.
4. Неoadьювантное лечение в анамнезе (химиотерапевтическое, гормональное, биологическое).

2.4. Критерии исключения

1. Перитонеальный карциноматоз, диагностированный интраоперационно.

2.5. Клиническая диагностика заболевания

Перед госпитализацией все пациенты проходили комплексное клиническо-инструментальное обследование. По завершении обследования все больные были консультированы сотрудниками отделения онкологии и хирургии ободочной кишки или отделения онкопроктологии, после чего на мультидисциплинарном консилиуме с привлечением колопроктолога, онколога, химиотерапевта, специалиста отделения рентгенодиагностики и врача-радиолога решался вопрос о целесообразности и объеме оперативного вмешательства. При наличии сопутствующей патологии у пациента, оценивалась стадия ее компенсации, по мере необходимости назначались консультации узкопрофильных специалистов для их коррекции и лечения. При поступлении у всех больных проводился сбор анамнеза. При беседе с пациентом обращали внимание на характер и длительность жалоб, клинические проявления болезни, онкологический анамнез, соматический статус больного.

Для определения степени влияния злокачественного заболевания на повседневную деятельность больного использовалась принятая во всем мире шкала оценки общего состояния, разработанная Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (Таблица 1).

Таблица 1 – Шкала ECOG

Баллы	Характеристика
0	Больной полностью активен, способен выполнять все, как и до заболевания.
1	Больной неспособен выполнять тяжелую, но может выполнять легкую или сидячую работу (например, легкую домашнюю или канцелярскую работу).
2	Больной лечится амбулаторно, способен к самообслуживанию, но не может выполнять работу. Более 50%

	времени бодрствования проводит активно – в вертикальном положении.
3	Больной способен лишь к ограниченному самообслуживанию, проводит в кресле или постели более 50% времени бодрствования
4	Инвалид, совершенно не способен к самообслуживанию, прикован к креслу или постели
5	Смерть

Также, для оценки анестезиологического риска, нами была использована шкала ASA (American Society of Anaesthesiologists), состоящая из 6 пунктов оценки физического статуса пациента (Таблица 2).

Таблица 2 – Оценка операционного риска по шкале ASA

Класс	Физическое состояние
I	Пациенты, не имеющие системных заболеваний.
II	Пациенты с компенсированным системным заболеванием, не вносящим существенных ограничений в физическую и социальную активность.
III	Пациенты с серьезным системным заболеванием, которое ограничивает физическую и (или) социальную активность, однако, может быть компенсировано в результате лечения.
IV	Пациенты с декомпенсированным заболеванием, требующим постоянного приема лекарственных препаратов.
V	Пациенты, которые могут погибнуть в течение 24 часов вне зависимости от того, будет или не будет оказана им медицинская помощь.

Физикальное обследование включало в себя общий осмотр пациента, оценку психического состояния, неврологического статуса, пальпацию живота и аускультацию грудной клетки. Также проводился осмотр перианальной области, пальцевое ректальное исследование, выполнялась ректороманоскопия. У

женщин также обязательным было вагинальное и бимануальное исследование. Ректороманоскопию выполняли в положении больного лежа на спине или на боку на гинекологическом кресле. Использовали ректоскопы KarlStorz (Германия) с диаметром тубуса 18 мм.

Стадирование опухоли осуществляли при помощи седьмой версии международной классификации TNM AJCC [166].

Изучались также антропометрические данные и индекс массы тела, расчет которого проводился по формуле:

$$\text{ИМТ} = \frac{\text{вес (кг)}}{\text{рост}^2(\text{м})} \quad (1)$$

Для оценки ИМТ использовалась классификация Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (International Obesity TaskForce, 1997).

Необходимый предоперационный комплекс диагностических мероприятий включал в себя клинический, биохимический анализ крови, гемокоагулограмму, общий анализ мочи, компьютерную томографию органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза с внутривенным контрастным усилением, колоноскопию, патоморфологическое исследование биопсийного материала.

Лабораторные методы исследования (Руководитель отдела клинико-биохимических исследований – А.В. Каменева)

Перед операцией больным, а также с целью динамического контроля за состоянием пациентов во время стационарного лечения, выполнялись следующие исследования: клинический анализ крови, биохимический анализ, коагулограмма, общий анализ мочи.

Иммунологические исследования (Руководитель отдела изучения микробиологических и иммунологических исследований – к.б.н. М.А. Сухина)

Перед операцией пациентам производилось определение уровня онкомаркеров РЭА и СА-19-9.

Пробоподготовка и трипсинизация

В работе выполнялось исследование клеточного состава перитонеального лаважа. Интраоперационно получали образец перитонеального смыва объёмом 500–1000 мл и доставляли пробу в лабораторию. Проводили концентрацию пробы. Образец центрифугировали на скорости 1500 g в течение 10 минут при комнатной температуре, удаляли супернатант. Осадок ресуспендировали физиологическим раствором с 5% сывороткой крупного рогатого скота, после чего подвергали его повторному центрифугированию на скорости 1500 g в течение 10 минут при комнатной температуре. Супернатант, видимые тяжи и сгустки фибрина удаляли. Последние 2 действия повторяли двухкратно.

Следующий этап пробоподготовки необходим для устранения фибриновых микросгустков, неспецифически связывающих антитела для окрашивания и препятствующих получению валидного результата цитометрии. Осадок, полученный после предыдущей отмывки, ресуспендировали физиологическим раствором с 5% сывороткой крупного рогатого скота и 1,5% NaHCO_3 (Sigma-Aldrich, США), $\text{pH} = 8,0$, и инкубировали 1 час при $39\text{ }^\circ\text{C}$ на термошейкере при постоянном перемешивании. Затем пробу центрифугировали при 1500 g в течение 10 минут, удаляли супернатант и вносили 3 мл 0,25% раствора трипсина. Образец ресуспендировали, трипсинизация выполнялась в течение 20 минут. По истечении срока инкубации образец снова центрифугировали при 1500 g в течение 10 минут и повторно удаляли супернатант.

После трипсинизации и удаления фибрина проводили лизис эритроцитов, попавших в пробу. Для этого использовали раствор BD PharmLyse (Beckman Dickinson, США). Концентрат, поставляемый производителем, разводили в 10 раз дистиллированной водой в соответствии с инструкцией для получения рабочего лизирующего раствора. Клеточный осадок, полученный после трипсинизации, ресуспендировали в 1 мл рабочего лизирующего раствора, тщательно вортексировали и инкубировали 10 минут при $37\text{ }^\circ\text{C}$ на водяной бане до полного гемолиза. Затем пробу центрифугировали на скорости 1500 g в

течение 10 минут при комнатной температуре, удаляли супернатант, а осадок ресуспендировали 100 мкл физиологического раствора с 5% сывороткой крупного рогатого скота.

Иммунофенотипирование

Фенотипирование клеточной фракции перитонеального лаважа выполняли методом проточной цитометрии на проточном цитометре FC500 (Beckman-Coulter, США). Проточная цитометрия позволяет оценить свойства частиц, взвешенных в потоке жидкости: размер и структуру, использование флуоресцентных меток, конъюгированных с моноклональными антителами, даёт возможность исследования содержания специфических молекул на поверхности или внутри клетки. Принцип цитометрии основан на регистрации прямого и бокового рассеяния света клеткой, а также флуоресценции, при прохождении клетки через лазерный луч в проточной ячейке (Рисунок 2).

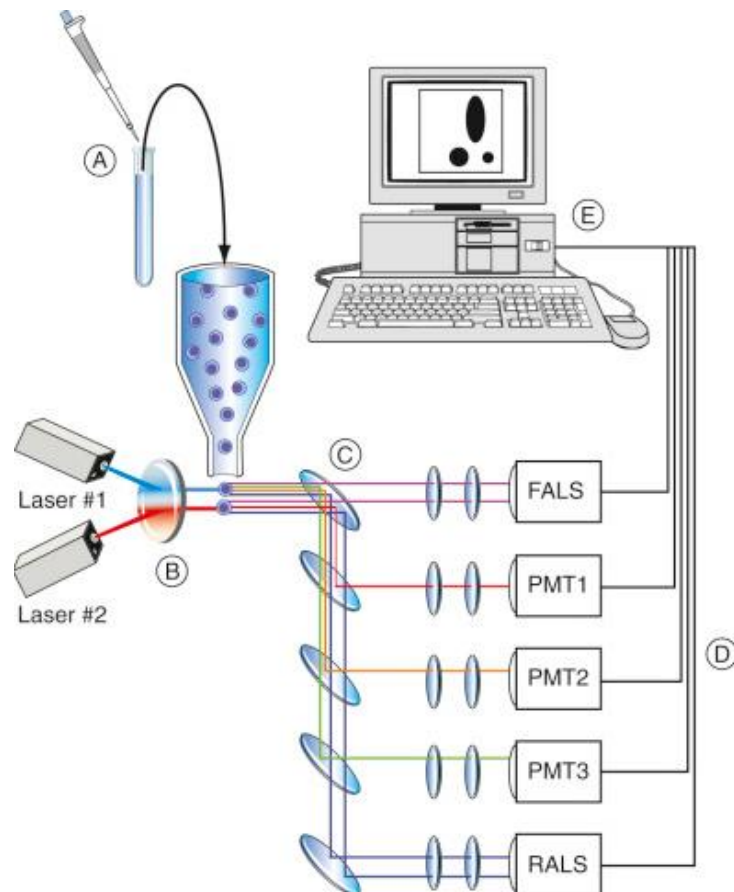


Рисунок 2 – Конструктивные элементы и принцип работы проточного цитометра по Roger S. Riley 2017 [126]

А. Растворы меченных флуорохромами моноклональных антител добавляют к суспензии клеток перитонеального лаважа, прошедшей пробоподготовку. Пробирки инкубируют при комнатной температуре в темноте.

В. Суспензию меченых клеток пропускают через проточную ячейку цитометра. Цитометр FC500, используемый в работе оборудован системой автоматической подачи кювет с образцом. Анализируют релевантное количество клеток из каждой пробы для получения статистически значимой информации.

С. Каждая клетка индивидуально проходит через сфокусированный лазерный луч проточного цитометра. Флуорохром каждого меченого моноклонального антитела, прикрепленного к клетке, возбуждается лазерным светом и излучает свет определенной длины волны. Клетки также рассеивают свет под разными углами. Фотодетекторы, расположенные впереди и под прямым углом к оси лазерного луча, собирают испускаемый и рассеянный свет. Детектируются сигналы прямого и углового рассеяния, а также пять сигналов флуорохромов.

Д. Сигналы от каждого фотодетектора оцифровываются и передаются в компьютер для отображения, анализа и записи.

Е. Различные гистограммы для визуального отображения могут создаваться автоматически или по усмотрению оператора. Данные в режиме списка также могут быть переданы на отдельный компьютер для анализа.

В настоящее время цитометрия широко используется в клинической практике, а также при выполнении сортировки клеток в научных лабораториях. В большинстве современных проточных цитометров используется от одного до трех лазеров с четырьмя или более фотоумножителями для выполнения иммунофенотипирования на основе 5–10 цветов (или выше). В настоящей работе применялся 5-цветный анализ на инструменте с 488 нм аргоновым лазером с воздушным охлаждением [119].

Используемый в данной работе аппарат оборудован проточной ячейкой закрытого типа. Этот тип проточной ячейки обладает некоторыми недостатками

по сравнению с открытой ячейкой: увеличенное расстояние между ячейкой и наконечником инжектора образца допускает возможность переброса между образцами и требует увеличенное время промывки, однако закрытая система характеризуется большей биологической безопасностью. В закрытой системе, называемой также ячейкой с кварцевым наконечником, точка гидродинамического фокусирования находится внутри камеры. Толщина кварцевой стенки обуславливает дифракцию лазерного луча или рассеяние сигнала. Кроме того, относительно большое поперечное сечение кварцевой ячейки (200 мкм²) затрудняет регулировку потока образца. Достижение валидного результата требует правильной настройки светового потока и собирающей оптики.

Анализ популяций клеток при помощи проточного цитометра использует комбинацию параметров, которые определяют конкретную популяцию клеток. В цитометрии применяются показатели, аналогичные тем, которые исторически использовались в гематологии: размер (прямое рассеяние света), гранулярность цитоплазмы (боковое рассеяние) и сродство к конкретным красителям. К этим красителям относят многочисленные флуоресцентные метки, связанные с антителами, а также зонды для анализа ДНК, в частности – йодистый пропидий (PI). Одновременное обнаружение окрашивания при помощи системы детекции прибора позволяет охарактеризовать ту или иную клеточную популяцию. Раньше в клинических проточных цитометрах использовалось не больше трёх измеряемых параметров. Окрашивание клеточных популяций было ограничено отсутствием непосредственно конъюгированных моноклональных антител, что потребовало использования антител, меченых биотином [125].

Определение положительных и отрицательных популяций в случаях высокого фона требует специального алгоритма вычитания по каналам, чтобы отличить истинно положительные события от событий, полученных в результате спектрального «перекрывания». Так, прибор, используемый в данной работе, имеет 5 флуоресцентных каналов детекции (Таблица 3).

Таблица 3 – Каналы детекции и возможные флуорохромы для цитометра FC500

Флуоресцентный канал	Фильтр	Полоса пропускания, нм	Флуорохромы
FL1	525BP	515 - 535	FITC, родамин 123
FL2	575BP	565 - 585	PE, PI
FL3	620BP	615 - 625	PE-Texas Red®, PI
FL4	675/30	660 - 690	PE-Cy5.5, 7-AAD
FL5	755/30	740 - 770	PE-Cy7

FITC – флуоресцеин изотиоцианат

PE – фикоэритрин

PI – пропидий-йодид

Cy – цианин

AAD – аминоактиномицин-D

При этом флуоресцентные сигналы, излучаемые разными флуорохромами, не полностью разделяются фильтрами: в частности, сигнал от CD133-VioBright-FITC может регистрироваться в канале детекции FL2, настроенном на регистрацию сигнала от CD24. Это может привести к перекрытию сигналов (Рисунок 3), которое корректируется программным вычитанием перекрывающегося сигнала, называемым компенсацией.

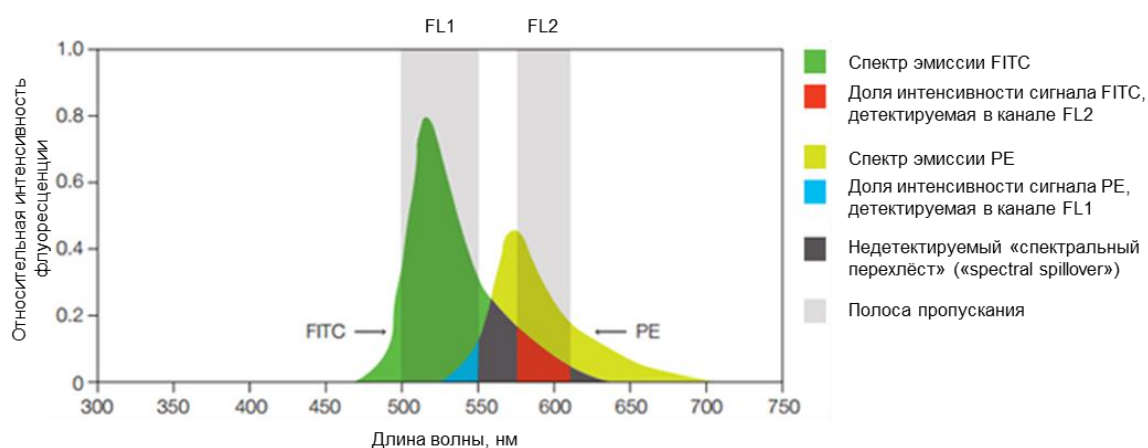


Рисунок 3 – Пересечение спектров эмиссии FITC и PE по BioRad [15]

Перекрытие особенно существенно при использовании нескольких флуорохромов, имеющих разные спектральные свойства. Процесс компенсации включает вычитание «побочного» сигнала, обнаруженного фотодетектором,

генерируемого образцами, окрашенными только одним флуорохромом. В настоящей работе выполнялась автономная компенсация, при которой окрашенные одним отдельным реагентом образцы использовались для создания компенсационной матрицы, которая затем применялась ко всем остальным исследуемым пробам [151]. В работе компенсацию выполняли при помощи контрольных частиц CaliBRITE (BD, США), которые окрашивали одним из используемых антител и определяли процент нежелательного свечения в соответствующем канале. Затем повторяли эксперимент с контрольным образцом клеток, окрашенным одним из препаратов антител, и выполняли точную настройку компенсаций. С помощью аппаратного программного обеспечения создавали матрицу компенсаций. После отработки методики окрашивали исследуемые образцы всеми флуорохромами одновременно. Стратегия гейтирования показана на рисунке 4.

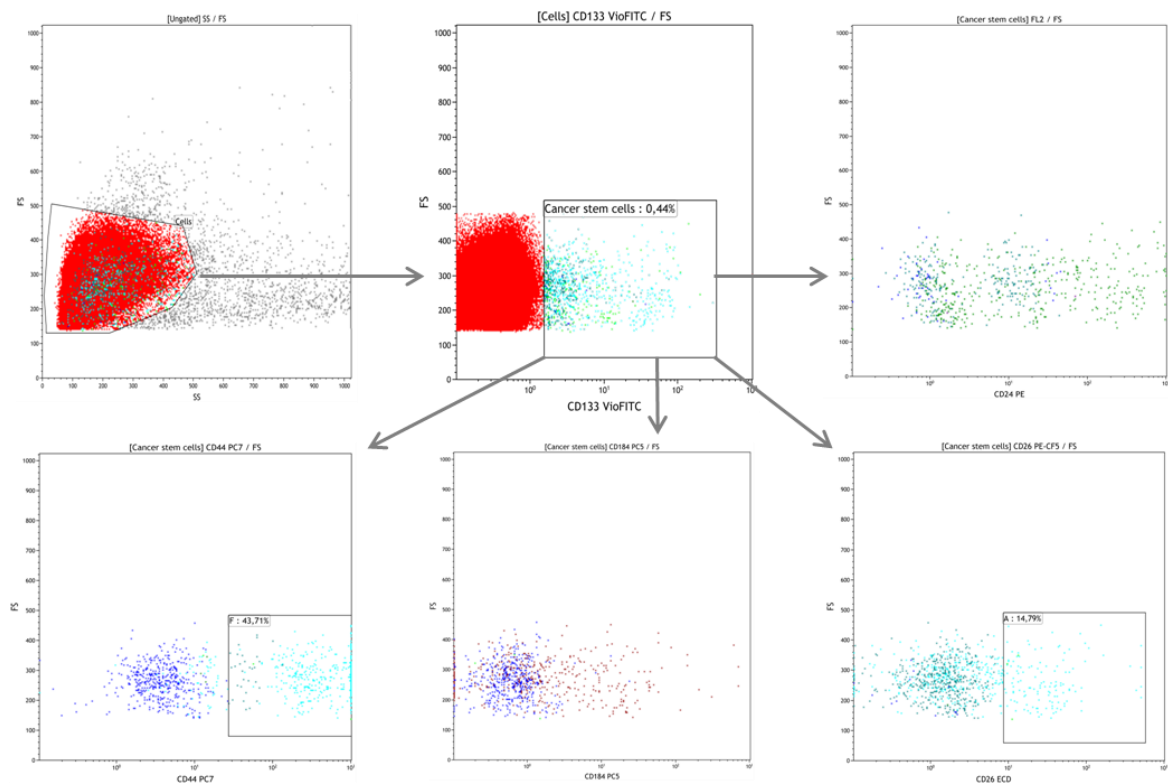


Рисунок 4 – Стратегия гейтирования

По морфологии (прямое и боковое светорассеивание) определяли регион интересующих событий-клеток, входящих в анализ. Среди них выделяли регион

CD133(+) раковых стволовых клеток, по интенсивности флуоресценции определяли плотность экспрессии CD133. Среди CD133(+) клеток определяли долю CD24(+), CD26(+), CD184(+) и CD44(+) популяций, оценивали интенсивность флуоресценции указанных маркеров.

Оценка жизнеспособности

В предлагаемой работе оценку жизнеспособности клеток проводили с использованием раствора иодистого пропидия (Propidium Iodide, PI): флуоресцентного витального красителя, связывающегося с ДНК. PI не может проникнуть сквозь неповреждённую мембрану жизнеспособных клеток, при этом вещество свободно окрашивает хроматин некротических клеток, а также клеток на поздних стадиях апоптоза. PI детектируется в оранжевой области спектра с использованием полосы пропускания 562–588 нм.

Для оценки жизнеспособности в образец, полученный после трипсинизации и гемолиза вносили 10 мкл 50 мкг/мл раствора PI (BD, США), pH 7,4. Окрашенный образец вортиксировали и инкубировали 10 минут при комнатной температуре в темноте. Затем раствор центрифугировали на скорости 1500 g в течение 10 минут, удаляли надосадочную жидкость и ресуспензировали фосфатным буфером. Сразу после процедуры выполняли цитометрию, флуоресценцию PI оценивали в канале детекции FL2 (Рисунок 5). Определяли долю PI-негативных событий как содержание жизнеспособных клеток (регион M1).

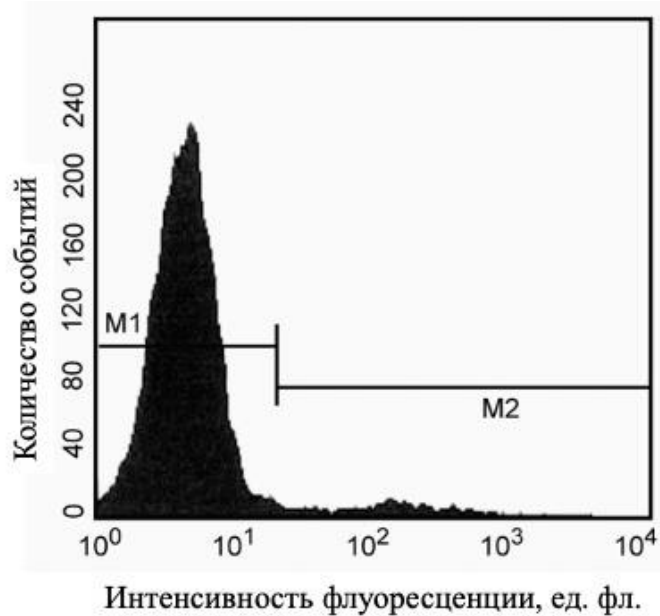


Рисунок 5 – Исследование жизнеспособности. M1 – PI-негативные жизнеспособные клетки, M2 – PI-позитивные нежизнеспособные клетки.

Эндоскопические методы исследования (руководитель отдела эндоскопической диагностики и хирургии – профессор, д.м.н. В.В. Веселов)

Всем пациентам выполнялась эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с целью исключения язв, эрозий и других сопутствующих заболеваний пищевода, желудка или двенадцатиперстной кишки. Исследование не требовало специальной подготовки и выполнялось натощак.

Обследование толстой кишки для уточнения локализации и степени распространения опухоли, взятия материала для морфологического подтверждения диагноза осуществляли во время колоноскопии. Для механической подготовки толстой кишки перед исследованием пациентам назначались бесшлаковая диета в течение трех предшествующих дней, прием препаратов полиэтиленгликоля, макрогола или пикосульфата натрия накануне исследования по двухэтапной схеме в зависимости от массы тела больного согласно инструкции по их применению. Во время колоноскопии производилась оценка слизистой оболочки и сосудистого рисунка толстой и терминального отдела подвздошной кишки на протяжении 10 см. В протоколе исследования

описывались локализация, протяженность, размер опухоли, ямочный и сосудистый рисунок слизистой оболочки.

Рентгенологические методы исследования (руководитель отдела рентгенодиагностики, компьютерной и магнитно-резонансной томографии – д.м.н. И.В. Зароднюк)

Для оценки распространенности опухоли, ее размеров, точной локализации и оценки вовлечения соседних органов или структур, исключения наличия отдалённых метастазов, метастатически измененных лимфатических узлов всем больным проводилась компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки, брюшной полости и органов малого таза с внутривенным введением рентгенконтрастного препарата (омнипак или ультравист) на компьютерном томографе Brilliance фирма «Philips Medical system». При подозрении на наличие отдаленных метастазов и с целью оценки их резектабельности или сложности дифференциации образований выполнялась магнитно-резонансная томография органов брюшной полости и органов малого таза (МРТ).

Ультразвуковые методы исследования (руководитель отдела – д.м.н. Ю.Л. Трубачева)

Для оценки состояния нижних конечностей всем больным старше 65 лет вне зависимости от возраста при наличии в анамнезе венозного тромбоза или операций на венах нижних конечностей на догоспитальном этапе проводилось ультразвуковое дуплексное сканирование. С целью оценки состояния сердца и исключения выраженной сопутствующей кардиальной патологии выполнялась эхокардиография. Интраоперационное ультразвуковое исследование органов брюшной полости применялось в качестве дополнительного метода диагностики для оценки локализации и степени инвазии опухоли, а также для уточнения локализации отдаленных метастазов.

Патоморфологические методы исследования (руководитель отдела – к.м.н. О.А. Майновская)

Проводка биоптатов из опухоли осуществлялась путем фиксации материала в 10% растворе забуференного формалина, после чего образцы заливались в парафин Paraplastmedium, Leica (Германия), срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Препараты исследовали при увеличении $\times 50$, $\times 100$ и $\times 200$.

Удаленный операционный препарат после хирургического вмешательства фиксировался путем погружения в 5% раствор формалина на 24 часа. В патоморфологическом заключении в обязательном порядке указывались: гистологический тип опухоли, степень её дифференцировки, уровень инвазии опухоли, минимальное расстояние от опухоли до циркулярного края, дистального и проксимального краев резекции, радикальность выполненной операции, количество исследованных и метастатически пораженных лимфоузлов, наличие перифокального воспаления, наличие перинеуральной, лимфоваскулярной и венозной инвазии.

2.6. Характеристика больных

С ноября 2017 г. по август 2020 г. в исследование было включено 90 больных раком ободочной кишки cT4N0-2M0-1b. В основную группу вошли 50, в контрольную – 40 пациентов. Статистически значимых различий между группами по полу, возрасту, росту, весу, индексу массы тела выявлено не было (Таблица 4). В основной группе было 28 (56%) мужчин и 22 (44%) женщины, в то время как в контрольной группе число мужчин составило 21 (52,5%), а женщин – 19 (47,5%) ($p=0,8$). Медиана возраста была 64,0 (57;71,8) и 68,5 (60;79,2) лет в основной и контрольных группах, соответственно ($p=0,08$).

Таблица 4 – Характеристики больных, включенных в исследование

Характеристика	Основная группа	Контрольная группа	p
Мужской пол, n (%)	28 (56%)	21 (52,5%)	0,8
Женский пол, n (%)	22 (44%)	19 (47,5%)	

Возраст, медиана (квартили), лет	64,0 (57,0;71,8)	68,5 (60,0;79,2)	0,08
Рост, медиана (квартили), см	169,0 (162,0;174,8)	166,5 (160,0;176,2)	0,7
Вес, медиана (квартили), кг	82,0 (65,0;86,0)	75,5 (61,8;88,5)	0,7
ИМТ, медиана (квартили), кг/м ²	27,0 (24,6;31,2)	27,2 (23,9;29,5)	0,7

Оценка физического статуса больных производилась по шкале ASA: наблюдалось превалирование пациентов со степенью анестезиологического риска ASA II, как в основной, так и в контрольной группах. При оценке групп по классу ASA статически значимых различий не было ($p=0,2$) (Таблица 5).

Таблица 5 – Распределение больных по шкале степени анестезиологического риска ASA

Класс ASA (American Society of Anesthesiologists)	Основная группа	Контрольная группа	p
I, n (%)	12 (24,0%)	8 (20,0%)	0,2
II, n (%)	29 (58,0%)	18 (45,0%)	
III, n (%)	9 (18,0%)	14 (35,0%)	

Общее состояние больных по шкале ECOG у 90% пациентов основной и 85% контрольной группы - соответствовало 0 баллов (пациент полностью активен, способен выполнять все, как и до заболевания). Исследуемые группы по физическому статусу были гомогенны ($p=0,5$) (Таблица 6).

Таблица 6 – Физический статус больных по индексу ECOG

Индекс ECOG	Основная группа	Контрольная группа	p
0, n (%)	45 (90%)	34 (85%)	0,5
1, n (%)	5 (10,0%)	6 (15,0%)	

Сопутствующие заболевания имелись у 40 пациентов основной и 29 контрольной группы. Группы были сопоставимы по сопутствующим заболеваниям (Таблица 7). Все сопутствующие заболевания носили компенсированный характер. Зафиксированные сопутствующие заболевания у больных находились в стадии компенсации. Самыми частыми из них были заболевания сердечно-сосудистой системы, такие как ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, нарушения ритма сердца. Вторыми по распространенности были заболевания эндокринной системы, представленные преимущественно сахарным диабетом и заболеваниями щитовидной железы. Заболевания органов дыхания были отмечены в 7,8% наблюдений и представлены бронхиальной астмой. Значительно реже встречались заболевания мочеполовой и пищеварительной систем.

Таблица 7 – Распределение больных в зависимости от характера сопутствующих заболеваний

Системы органов	Основная группа	Контрольная группа	p
Сердечно-сосудистая система, n (%)	35 (70,0%)	29 (72,5%)	0,8
Эндокринная система, n (%)	12 (24,0%)	5 (12,5%)	0,2
Органы дыхания, n (%)	4 (8,0%)	2 (5,0%)	0,7
Мочеполовая система, n (%)	3 (6,0%)	1 (2,5%)	0,6
Органы пищеварения, n (%)	2 (4,0%)	0 (0%)	0,5

По размеру, локализации и дифференцировке опухоли группы были однородны (Таблица 8). Первичная опухоль локализовалась в большинстве случаев в левой половине ободочной кишки, как в основной (72%), так и в контрольной группе (65%). Патоморфологический анализ операционных препаратов показал, что в основной и контрольной группах опухоль в 100% была представлена аденокарциномой.

Наиболее часто у пациентов обеих групп встречалась умеренно-дифференцированная аденокарцинома – у 33 больных основной и 31 пациента контрольной группы.

При сопоставлении больных исследуемых групп по наличию венозной, лимфоваскулярной, периневральной инвазии, наличию прорастания в соседние органы различия не достигли статистической значимости. По наличию перифокального воспаления выявлено статистически значимое различие между группами: перифокальное воспаление чаще отмечалось в контрольной группе ($p=0,03$) (Таблица 8).

Таблица 8 – Характеристика опухолей пациентов исследуемых групп

Характеристика		Основная группа	Контрольная группа	p
Размер опухоли, медиана (квартили), см		6,0 (5,0;7,0)	6,0 (4,9;7,0)	0,8
Локализация опухоли, n (%)	Правые отделы ободочной кишки	14 (28%)	14 (35%)	0,5
	Левые отделы ободочной кишки	36 (72%)	26 (65%)	
Дифференцировка опухоли, n (%)	Высокодифференцированная аденокарцинома	0	1 (2,5%)	0,1
	Умеренно-дифференцированная аденокарцинома	33 (66,0%)	31 (77,5%)	
	Низкодифференцированная аденокарцинома	7 (14,0%)	6 (15,0%)	
	Слизистая аденокарцинома	10 (20,0%)	2 (5,0%)	
Перифокальное воспаление, n (%)		18 (36,0%)	24 (60,0%)	0,03
Венозная инвазия, n (%)		20 (40,0%)	9 (22,5%)	0,1
Лимфоваскулярная инвазия, n (%)		36 (72,0%)	29 (72,5%)	1,0
Периневральная инвазия, n (%)		11 (22,0%)	7 (17,5%)	0,8
Прорастание в соседние органы, n (%)		12 (24,0%)	8 (20,0%)	0,8

По глубине прорастания опухолью кишечной стенки, установленной по данным патоморфологического исследования удаленного препарата,

статистически значимых различий между группами отмечено не было ($p=0,9$) (Таблица 9).

Таблица 9 – Распределение больных в зависимости от глубины прорастания первичной опухоли кишечной стенки

T	Основная группа, n (%)	Контрольная группа, n (%)	p
3	21 (42,0%)	19 (47,5%)	0,9
4a	17 (34,0%)	13 (32,5%)	
4b	12 (24,0%)	8 (20,0%)	

Менее чем у половины пациентов обеих групп опухоль была ограничена пределами кишечной стенки. Прорастание всех слоев кишечной стенки, что соответствовало критерию T4a, при морфологическом исследовании было выявлено у 34% больных основной и у 32,5% пациентов контрольной группы. Распространение опухоли на соседние органы и структуры (индекс T4b) отмечено в 12 и 8 случаях в основной и контрольной группе, соответственно. Вовлечение тонкой кишки в опухолевый процесс было выявлено у 5 больных основной и 5 контрольной группы, передней брюшной стенки – в 3 наблюдениях в основной группе. Опухоль прорастала в мочевой пузырь у 2 пациентов основной и у 1 контрольной группы. Гораздо реже было отмечено прорастание опухоли двенадцатиперстной кишки и желудка – по 1 случаю в основной группе, прорастание матки, ткани печени – по 1 больному в контрольной группе.

В отношении количества пораженных лимфатических узлов (ЛУ) и наличия отдаленных резектабельных метастазов на момент проведения операции группы были сопоставимы (Таблица 10). Статистически значимые различия между исследуемыми группами имелись лишь по количеству исследованных лимфатических узлов ($p=0,004$). У большей части пациентов исследуемых групп отсутствовали отдаленные метастазы, лишь в 4 наблюдениях у больных основной группы и у 2 пациентов контрольной были отмечены метастазы рака ободочной кишки в печень.

Таблица 10 – Характеристика регионарных лимфатических узлов и частота выявления отдаленных метастазов

Характеристика		Основная группа	Контрольная группа	p
Количество исследованных ЛУ, медиана (квартили)		45,0 (33,2;58,0)	34,0 (24,0;46,0)	0,004
Количество пораженных ЛУ, медиана (квартили)		1,0 (0,0;6,8)	1,0 (0,0;4,2)	0,8
Отдаленные метастазы, n (%)	Нет	46 (92,0%)	38 (95,0%)	0,7
	есть	4 (8,0%)	2 (5,0%)	

Среди пациентов исследуемых групп не было отмечено достоверных различий при оценке стадии заболевания (Таблица 11). Выявленные различия по количеству исследованных лимфатических узлов не имели существенного практического значения поскольку по количеству пораженных лимфатических узлов статистически значимых различий зарегистрировано не было.

Таблица 11 – Распределение больных в зависимости от стадии опухоли

Стадия заболевания	Основная группа	Контрольная группа	p
IIA	12 (24,0%)	8 (20,0%)	1,0
IIB	7 (14,0%)	6 (15,0%)	
IIC	4 (8,0%)	3 (7,5%)	
IIIA	0	1 (2,5%)	
IIIB	9 (18,0%)	9 (22,5%)	
IIIC	15 (30,0%)	11 (27,5%)	
IV	3 (6,0%)	2 (5,0%)	

В зависимости от локализации и распространённости опухолевого процесса были выполнены как комбинированные, так и стандартные оперативные вмешательства (Таблица 12). Исследуемые группы по объему произведенных операций были сопоставимы.

Таблица 12 – Виды выполненных операций в исследуемых группах

Операции	Основная группа n=50	Контрольная группа n=40	p
Комбинированные операции:	25 (50%)	17 (42,5%)	0,676

С резекцией 1 органа, n	13	9	0,777
С резекцией 2 и более органов, n	12	8	
Стандартные операции	25 (50%)	23 (57,5%)	0,676
ПГКЭ, n	7	7	0,631
РПОК, n	1	0	
ЛГКЭ, n	9	5	
ДРС, n	3	3	
РЛО, n	5	7	
Субтотальная колэктомия, n	0	1	

ПГКЭ — правосторонняя гемиколэктомия, РПОК – резекция поперечной ободочной кишки, ЛГКЭ — левосторонняя гемиколэктомия, ДРС— дистальная резекция сигмовидной кишки, РЛО – резекция левых отделов ободочной кишки.

Операции носили комбинированный характер у 25/50 (50%) и 17/40 (42,5%) пациентов основной и контрольной групп, соответственно.

Медиана койко-дня была меньше в контрольной группе – 11,5 (8,5–15) против 12,5 (9–17) дней в основной, однако различия были статистически незначимыми ($p=0,7$) (Таблица 13).

Средняя продолжительность операции составила $220,5 \pm 83,4$ (95% ДИ: 196,8–244,2) и $225 \pm 80,4$ (95% ДИ: 199,4–250,8) минут в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,8$). Медиана интраоперационной кровопотери значимо не различалась между группами.

Таблица 13 – Характеристика выполненных оперативных вмешательств

Характеристика	Основная группа	Контрольная группа	p
Продолжительность операции, $M \pm SD$, мин.	$220,5 \pm 83,4$	$225 \pm 80,4$	0,8
Объем кровопотери, медиана (квартили), мл	100,0 (50,0;100,0)	100,0 (50,0;100,0)	0,7
Койко-день, медиана (квартили)	12,5 (9,0;17,0)	11,5 (8,0;15,0)	0,7

Таким образом, в исследование были включены две сопоставимые по антропометрическим, основным клиническим характеристикам, а также по стадии опухолевого процесса и объему оперативного вмешательства группы.

2.7. Подготовка больных к операции и осуществление перитонеальных смывов

Предоперационную подготовку проводили по стандартной схеме. За 3–4 дня до планируемой даты операции пациенты соблюдали бесшлаковую диету. Накануне операции при локализации опухоли в левой половине ободочной кишки осуществлялась антеградная подготовка кишечника при помощи препаратов полиэтиленгликоля или пикосульфата натрия в объеме 2–3 литров. При расположении опухоли в правой половине ободочной кишки подготовка кишечника не проводилась. Профилактику тромбообразования выполняли при помощи подкожного введения препаратов низкомолекулярного гепарина за 12 часов до операции из расчета 38 анти-Ха МЕ/кг веса. Также дополнительно осуществлялась механическая компрессия нижних конечностей при помощи бинтования эластичными бинтами или подбора компрессионного трикотажа – чулок необходимой степени компрессии в зависимости от наличия патологии вен нижних конечностей.

Оперативные вмешательства выполняли с соблюдением правил асептики, антисептики и аластики. Перед началом операции катетеризировали мочевого пузырь. Всем пациентам обеспечивался центральный или периферический венозный доступ в зависимости от состояния вен, соматического статуса и планируемого объема операции. Хирургическое вмешательство проводили под комбинированной анестезией с постановкой эпидурального катетера или спинальной анестезией и, при необходимости, внутривенным потенцированием. В качестве антибиотикопрофилактики за 20 минут до начала кожного разреза осуществлялось внутривенное введение метронидазола 500 мг и ципрофлоксацина 400 мг. Перед операцией выполнялась обработка операционного поля раствором антисептика. После лапароскопии и установки

троакаров или лапаротомии производилась интраоперационная ревизия органов брюшной полости. Следующим этапом брюшная полость пациентов обеих групп в проекции опухоли орошалась 1000 мл 0,9% водного раствора хлорида натрия с последующей аспирацией материала для исследования – первый перитонеальный смыв. Далее выполнялось клинически радикальное оперативное вмешательство, по окончании которого в полость малого таза и в проекцию ложа удаленной опухоли устанавливались 2 силиконовых или два четырехканальных дренажа типа «Blake». После ушивания брюшной полости у больных основной группы в дренажи осуществлялось введение диализата Митомицина С. Препарат разводился в дозе 20 мг на 1 м² площади поверхности тела пациента в 1200 мл 1,5% раствора глюкозы. Полученный раствор вливался при помощи шприца Жане струйно в равном объеме в каждый из дренажей, после чего дренажи перекрывали наглухо. По окончании оперативного вмешательства пациент для дальнейшего мониторинга переводился в отделение анестезиологии и реанимации. Экспозиция диализата Митомицина составляла 2 часа. По прошествии времени дренажи открывались и осуществлялась пассивная эвакуация диализата. Далее через дренажи вводился 1 литр 0,9% водного раствора хлорида натрия с экспозицией на 2 часа, после чего дренажи открывались и производился повторный забор материала для иммунологического исследования.

У больных контрольной группы после ушивания брюшной полости через дренажи вводился 1 литр 0,9% раствора натрия хлорида с последующим их перекрытием и экспозицией на 2 часа. По истечении обозначенного времени дренажи открывали и получали при помощи пассивной эвакуации второй перитонеальный смыв для исследования.

Оценка тяжести послеоперационных осложнений выполнялась в соответствии со шкалой Clavien-Dindo (Таблица 14).

Таблица 14 – Классификация послеоперационных хирургических осложнений по шкале Clavien-Dindo

Степень	Характеристика
I	Любые отклонения от нормального течения послеоперационного периода, не требующие лекарственного лечения или хирургических, эндоскопических или радиологических вмешательств. Допустимыми к использованию препаратами являются: антиэметические, антипиретические, анальгизирующие, диуретические препараты, электролиты и физиотерапия.
II	Для купирования данного осложнения необходимы лекарственные препараты, помимо вышеперечисленных для I степени осложнений. Также сюда относятся гемотранфузия и полное парентеральное питание.
III	Состояния, требующие проведения хирургических, эндоскопических или радиологических вмешательств
IIIА	Вмешательства, не требующие общей анестезии
IIIВ	Вмешательства, для проведения которых необходима общая анестезия
IV	Жизнеугрожающие состояния, включая осложнения со стороны ЦНС, требующие нахождения и лечения в условиях ОРИТ
IVА	Дисфункция одного органа, включая диализ
IVВ	Полиорганная недостаточность
V	Смерть

2.8. Выбор препарата для проведения ВБХТ

Митомицин С – алкилирующий опухолевый антибиотик, выделенный из бактерий рода *Streptomyces*, основным механизмом действия которого является образование поперечных сшивок между ДНК [12]. Он наряду с оксалиплатином является одним из препаратов, используемых при проведении ВБХТ у пациентов

с КРР [96]. Рядом авторов было показано отсутствие различий в частоте развития послеоперационных осложнений и в показателях выживаемости у пациентов, которым была проведена ВБХТ с оксалиплатином и митомицином С [38, 40, 41, 49, 68, 94, 142, 159, 160]. Однако следует принимать во внимание, что вышеперечисленные работы имели характер ретроспективных. В настоящее время ввиду отсутствия рандомизированных исследований III фазы не существует официальных стандартизованных протоколов по выбору препарата и методики проведения ВБХТ [75]. Выбор препарата для проведения интраперитонеальной химиотерапии основывается на предпочтениях конкретного лечебного учреждения.

2.9. Методы статистического анализа

Данные о больных вносились в специально разработанную электронную базу данных в программе Excel программного обеспечения Microsoft Office для Windows. Обработка данных выполнялась с применением программ IBM SPSS Statistics Version 26 и GraphPad Prism 7 для Windows.

Проверка на нормальность распределения проводилась с использованием критерия Шапиро-Уилка с коррекцией значимости Лиллиефорса, анализа гистограмм, а также показателей асимметрии и эксцесса. При выявлении нормального распределения параметрические данные выражались в виде $M \pm SD$ и 95% ДИ, в случае распределения отличного от нормального использовались Me и Q_1-Q_3 . Сравнение групп в отношении количественных переменных при нормальном распределении проводилось с использованием t-теста, при распределении отличного от нормального – теста Манна-Уитни. В отношении оценки качественных показателей применялся точный тест Фишера или хи квадрат Пирсона. При сравнении влияния ВБХТ в исследуемых группах на уровень экспрессии маркеров до и после лечения для нормально распределенных значений использовался парный t-критерий Стьюдента, а для количественных значений, распределение которых отличалось от нормального – критерий Уилкоксона.

Для оценки ассоциации переменных с маркерами применялся коэффициент корреляции Спирмена. С целью определения влияния категориальных переменных на уровень экспрессии маркеров применялся тест Краскела-Уоллиса. Для анализа динамики уровня изучаемых маркеров в динамике использовались смешанные линейные регрессионные модели с включением взаимодействия между группой и периодом наблюдения (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с повторными наблюдениями). На основе полученных моделей были произведены оценки маргинальных средних значений уровней маркеров (с соответствующими 95% доверительными интервалами) в изучаемых группах для каждого периода наблюдения. Аналогично проводилась оценка маргинальных средних для анализа различий в уровнях изучаемых маркеров между группами. Использовались линейные регрессионные модели с включением уровня соответствующего маркера на момент включения в исследование в качестве поправочной ковариаты (ковариационный анализ ANCOVA). Для оценки факторов риска использовался бинарный логистический регрессионный метод с расчетом отношения шансов (ОШ). ОШ определяли при использовании экспоненты коэффициента регрессии с 95% доверительным интервалом. Выживаемость оценивали с помощью кривой Kaplan-Meier с оценкой статистической значимости с помощью лог-ранк критерия Мантеля-Кокса. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Уровни экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток

Анализ клеточного состава перитонеальных смывов выявил, что интраперитонеальные жизнеспособные СОК присутствуют у пациентов обеих групп как в первом, так и во втором перитонеальном смыве. Было отмечено снижение количества интраперитонеальных СОК у пациентов как основной, так и контрольной группы ($p < 0,0001$) (Таблица 15).

Таблица 15 – Содержание СОК в перитонеальных смывах пациентов исследуемых групп

Группа	Перитонеальные смывы				p
	1 смыв		2 смыв		
	Маргинальное среднее, СОК	95% ДИ	Маргинальное среднее, СОК	95% ДИ	
Основная	1373,3	(1068,2-1872,4)	1135,5,1	(952,5-1669,5)	<0,0001
Контрольная	1224,2	(836,8-1571,5)	596	(439,1-824,9)	<0,0001

Принимая во внимание необходимость повторных сравнений, статистический расчет динамики экспрессии маркеров СОК производился при помощи дисперсионного анализа ANOVA. Для оценки туморогенности и пролиферативного потенциала интраперитонеальных СОК, а также воздействия ВБХТ на интраперитонеальные СОК был осуществлен анализ уровней динамики экспрессии их маркеров: CD133, CD184, CD24, CD26, CD44 (Таблица 16).

Таблица 16 – Динамика экспрессии маркеров опухолевых клеток в перитонеальных смывах у пациентов исследуемых групп

Маркеры	Группы	Перитонеальные смывы				p
		1 смыв		2 смыв		
		Маргинальные средние, ед.фл.*	95% ДИ	Маргинальные средние, ед.фл.	95% ДИ	
CD133	Основная	6,2	5,2–7,3	5,5	4,7–6,5	0,1

	Контрольная	8,4	7,0–10,3	8,5	7,1–10,4	0,9
		p=0,02		p=0,007		-
CD184	Основная	4,7	4,3–5,0	4,4	4,1–4,7	0,2
	Контрольная	4,5	4,1–4,9	4,2	3,9–4,6	0,3
		p=0,5		p=0,5		-
CD24	Основная	5,0	4,6–5,6	5,0	4,5–5,5	0,9
	Контрольная	5,6	5,0–6,3	6,5	5,8–7,3	0,03
		p=0,2		p=0,0009		-
CD26	Основная	6,3	5,7–7,1	5,2	4,7–5,8	0,004
	Контрольная	7,6	6,7–8,7	6,4	5,7–7,3	0,03
		p=0,03		p=0,01		-
CD44	Основная	8,8	6,9–11,4	7,6	6,0–9,9	0,3
	Контрольная	10,7	8,0–14,4	10,8	8,1–14,6	0,9
		p=0,3		p=0,08		-

*Ед.фл. – единицы флуоресценции

В отношении уровней экспрессии маркеров CD133, CD44 и CD184 в динамике статистически значимых различий в обеих группах получено не было (Таблица 16).

Выявлено, что в основной группе уровень экспрессии CD24 оставался неизменным как в первом, так и втором смыве, тогда как в контрольной группе наблюдалось увеличение его экспрессии с 5,6 ед.фл. до 6,5 ед.фл. (p=0,03) (Таблица 16, Рисунок 6).

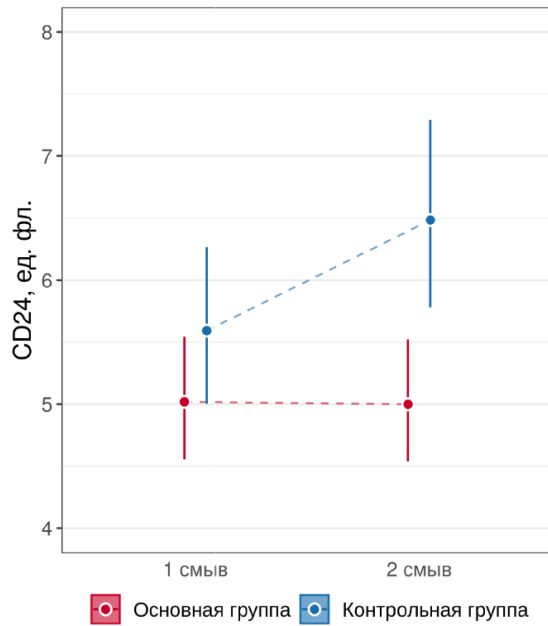


Рисунок 6 – Гистограмма уровней экспрессии маркера CD24 в сравниваемых группах в динамик

При этом уровень CD26 статистически значимо снижался в основной группе, составив 6,3 ед.фл. и 5,2 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно, ($p=0,004$). Схожая динамика прослеживалась и у пациентов контрольной группы: уровень флуоресценции составил 7,6 ед.фл. и 6,4 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно, ($p=0,03$) (Таблица 17, Рисунок 7).

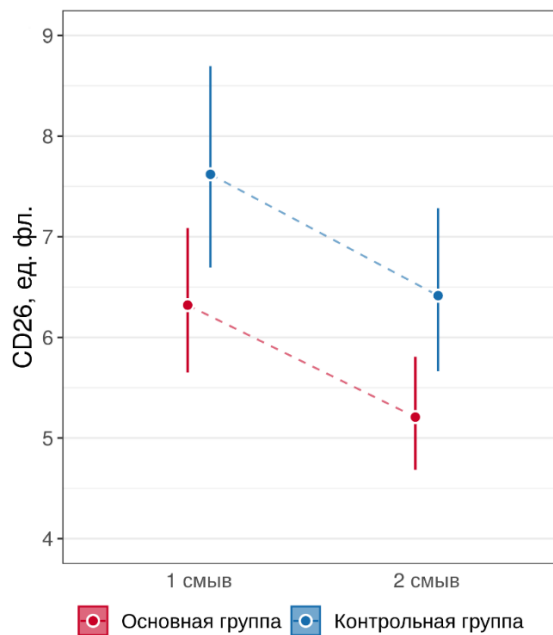


Рисунок 7 – Гистограмма уровней экспрессии маркера CD26 в сравниваемых группах в динамике

Принимая во внимание тот факт, что в настоящее исследование были включены пациенты с раком ободочной кишки, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которых на этапе предоперационного обследования соответствовала индексу сТ4, дополнительно был осуществлен анализ экспрессии маркеров СОК в динамике в зависимости от критерия Т по данным патоморфологического исследования операционного препарата (Таблица 17, Таблица 18).

В отношении уровней экспрессии маркеров CD133, CD24, CD44 и CD184 в динамике у пациентов с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT3 статистически значимых различий в обеих группах получено не было. Выявлено, что уровень CD26 статистически значимо снижался в основной группе, составив 6,3 ед.фл. и 5,1 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно, ($p=0,007$). Схожая тенденция прослеживалась и у пациентов контрольной группы: уровень флуоресценции составил 7,7 ед.фл. и 6,3 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно, ($p=0,06$) (Таблица 17).

Таблица 17 – Динамика экспрессии маркеров опухолевых клеток в перитонеальных смывах у пациентов исследуемых групп с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT3

Маркеры	Группы	Перитонеальные смывы				p
		1 смыв		2 смыв		
		Маргиналь ные средние, ед.фл.	95% ДИ	Маргиналь ные средние, ед.фл.	95% ДИ	
CD133	Основная	5,6	4,4–7,2	5,7	4,4–7,3	0,9
	Контрольная	8,9	6,7–11,8	8,2	6,2–10,9	0,5
		p=0,02		p=0,05		-
CD184	Основная	4,7	4,2–5,4	4,2	3,7–4,7	0,1
	Контрольная	4,4	3,9–4,9	3,9	3,5–4,4	0,2
		p=0,4		p=0,5		-
CD24	Основная	5,0	4,3–5,8	4,8	4,2–5,6	0,8
	Контрольная	6,0	5,1–7,2	6,5	5,5–7,8	0,4
		p=0,09		p=0,0009		-

CD26	Основная	6,2	5,2–7,3	5,1	4,3–6,1	0,007
	Контрольная	7,7	6,4–9,4	6,3	5,2–7,5	0,06
		p=0,08		p=0,01		-
CD44	Основная	8,0	5,5–11,9	9,1	6,2–13,8	0,5
	Контрольная	11,4	7,5–17,6	10,4	6,9–16,1	0,7
		p=0,2		p=0,7		-

В отношении уровней экспрессии маркеров CD184, CD44 в динамике у пациентов с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT4 статистически значимых различий в обеих группах получено не было. Выявлено, что уровень CD133 статистически значимо снижался в основной группе, составив 6,7 ед.фл. и 5,4 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно, (p=0,04). При этом уровень CD24 статистически значимо повышался в контрольной группе, составив 5,2 ед.фл. и 6,4 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно, (p=0,03). В отношении маркера CD26 отмечено статистически значимое снижение уровня его экспрессии в основной группе: с 6,4 ед.фл. до 5,3 ед.фл., в первом и втором смывах, соответственно (p=0,03). Выявлена тенденция к снижению маркера CD44 в основной группе, уровень его экспрессии в первом и втором перитонеальных смывах составил 9,5 ед.фл. и 6,7 ед.фл., соответственно (p=0,07).

Таблица 18 – Динамика экспрессии маркеров опухолевых клеток в перитонеальных смывах у пациентов исследуемых групп с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT4

Маркеры	Группы	Перитонеальные смывы				p
		1 смыв		2 смыв		
		Маргинальные средние, ед.фл.*	95% ДИ	Маргинальные средние, ед.фл.	95% ДИ	
CD133	Основная	6,7	5,4–8,3	5,4	4,4–6,7	0,04
	Контрольная	8,1	6,2–10,6	8,9	6,8–11,7	0,4
		p=0,3		p=0,04		-
CD184	Основная	4,6	4,2–5,1	4,5	4,1–5,0	0,8

	Контрольная	4,6	4,1–5,2	4,5	4,0–5,1	0,8
		p=0,9		p=0,9		-
CD24	Основная	5,1	4,4–5,8	5,1	4,5–5,8	0,9
	Контрольная	5,2	4,5–6,1	6,4	5,5–6,7	0,03
		p=0,09		p=0,0009		-
CD26	Основная	6,4	5,5–7,5	5,3	4,6–6,1	0,03
	Контрольная	7,5	6,3–9,0	6,6	5,5–7,8	0,2
		p=0,2		p=0,06		-
CD44	Основная	9,5	6,8–13,4	6,7	4,9–9,4	0,07
	Контрольная	10,1	6,8–15,2	11,2	7,5–17,0	0,7
		p=0,8		p=0,06		-

Учитывая отсутствие в настоящий момент общепринятых референсных значений уровней флуоресценции маркеров опухолевых клеток и наличие статистически значимых различий между исследуемыми группами в начальном уровне флуоресценции маркеров CD133 (Таблица 16), сравнение уровней экспрессии во вторых смывах производилось с использованием ковариационного анализа ANCOVA с включением экспрессии соответствующего маркера в первом смыве в качестве поправочной ковариаты (Таблица 19).

Таблица 19 – Уровни экспрессии маркеров опухолевых клеток во втором перитонеальном смыве у пациентов исследуемых групп

Маркеры	Группы				Отношение маргинальн ых средних (95% ДИ)	p
	Основная		Контрольная			
	Маргиналь ное среднее, ед.фл.	95% ДИ	Маргиналь ное среднее, ед.фл.	95% ДИ		
CD133	5,9	5,1–6,8	8,0	6,8–9,5	0,72 (0,54–0,9)	0,007
CD184	4,4	4,0–4,8	4,2	3,8–4,6	1,05 (0,9–1,23)	0,5
CD24	5,1	4,6–5,7	6,3	5,5–7,1	0,78 (0,64–0,96)	0,02

CD26	5,3	4,8–5,9	6,3	5,6–7,2	0,81 (0,67–0,99)	0,04
CD44	7,8	6,1–10,1	10,5	7,9–14,1	0,72 (0,47–1,11)	0,3

Так, было установлено, что независимо от инициального значения уровень экспрессии CD133 в основной группе после проведения ВБХТ был статистически значимо ниже в среднем в 0,72 раза по сравнению с контрольной группой ($p=0,007$) (Таблица 17, Рисунок 8). CD133 широко используется для идентификации и выделения стволовых и опухолевых клеток [26, 112, 123]. Было выявлено, что некоторые сигнальные пути опухолевых клеток, включая Wnt, трансформирующий фактор роста-бета (TGF- β), Notch и Hedgehog [127] связаны с экспрессией CD133 при колоректальном раке. Принимая во внимание полученное статистически значимое снижение экспрессии маркера CD133 во втором перитонеальном смыве у больных основной группы по сравнению с контрольной, можно сделать вывод о подавлении активности СОК под воздействием ВБХТ.

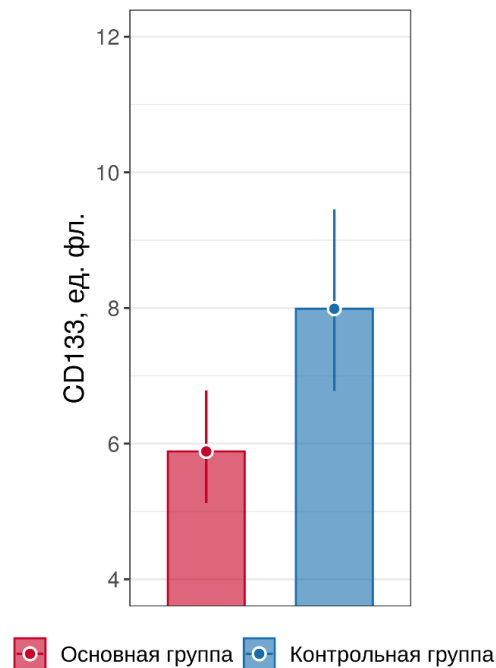


Рисунок 8 – Гистограмма уровней экспрессии маркера CD133 во втором смыве сравниваемых группах

Экспрессия маркера CD184 во втором перитонеальном смыве статистически значимо не различалась между группами.

Уровень флуоресценции маркера CD24 во втором смыве был ниже в среднем в 0,78 раза у больных основной группы по сравнению с контрольной группой ($p=0,02$) (Таблица 17, Рисунок 9). Экспрессия CD24 опосредует канцерогенез и способствует прогрессированию заболевания за счет активности онкогена STAT3 [161].

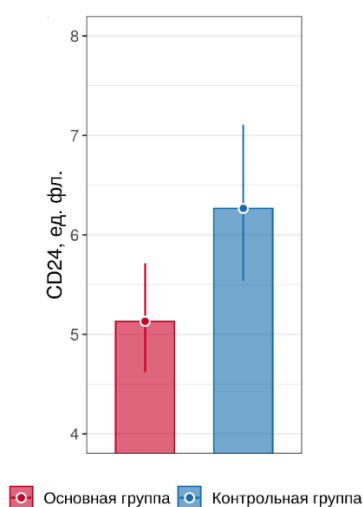


Рисунок 9 – Гистограмма уровней экспрессии маркера CD24 во втором смыве сравниваемых групп

Уровень экспрессии маркера CD26 был ниже после проведения ВБХТ в 0,81 раза ($p=0,04$) (Таблица 17, Рисунок 10). Pang R. и соавт. продемонстрировали, что экспрессия CD26 была ассоциирована с развитием отдаленных метастазов при колоректальном раке путем связывания с компонентами внеклеточного матрикса, такими как фибронектин и коллаген и регулирование экспрессии маркеров ЭМП [114]. Снижение интенсивности экспрессии маркеров CD26 и CD24 во втором перитонеальном смыве после проведения ВБХТ свидетельствует об уменьшении опухолевой и пролиферативной способности интраперитонеальных СОК.

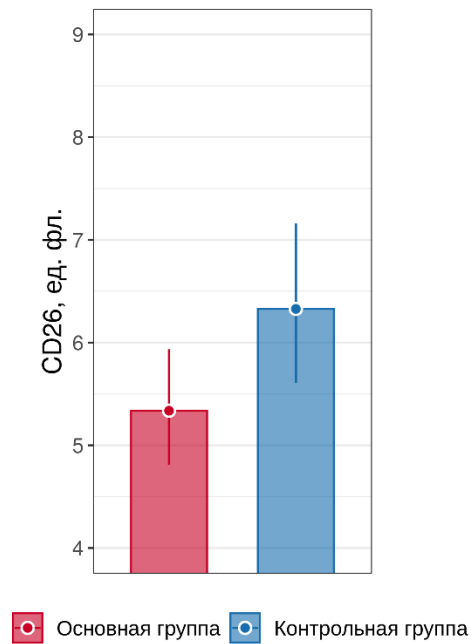


Рисунок 10 – Гистограмма уровней экспрессии маркера CD26 во втором смыве сравниваемых группах

Принимая во внимание тот факт, что в настоящее исследование были включены пациенты с раком ободочной кишки, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которых на этапе предоперационного обследования соответствовала индексу сТ4, дополнительно был осуществлен анализ экспрессии маркеров СОК во втором перитонеальном смыве в зависимости от критерия Т по данным патоморфологического исследования операционного препарата (Таблица 20, Таблица 21).

Было установлено, что уровни экспрессии маркеров CD133, CD184, CD24, CD26, CD184 во втором перитонеальном смыве у больных с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки рТ3 статистически значимо не различались между группами (Таблица 20).

Таблица 20 – Уровни экспрессии маркеров опухолевых клеток во втором перитонеальном смыве у пациентов исследуемых групп с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки рТ3

Маркеры	Группы		Отношение маргинальн	р
	Основная	Контрольная		

	Маргинальное среднее, ед.фл.	95% ДИ	Маргинальное среднее, ед.фл.	95% ДИ	ых средних (95% ДИ)	
CD133	6,3	5,1–7,9	7,2	5,8–9,2	0,9 (0,58–1,25)	0,4
CD184	4,2	3,7–4,7	3,9	3,5–4,5	1,08 (0,85–1,38)	0,5
CD24	5,0	4,3–5,9	6,1	5,1–7,3	0,79 (0,58–1,07)	0,1
CD26	5,2	4,5–6,2	6,1	5,2–7,3	0,83 (0,62–1,11)	0,2
CD44	10,1	6,8–15,2	9,9	6,6–15,3	1,02 (0,53–1,95)	0,9

При оценке уровней экспрессии маркеров СОК во втором перитонеальном смыве у больных с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки рТ4 было выявлено статистически значимое снижение уровней экспрессии маркеров CD133, CD44 в 0,6 раз после проведения ВБХТ ($p=0,003$, $p=0,05$, соответственно). В отношении маркеров CD24, CD26 была отмечена тенденция к снижению уровней их экспрессии после проведения ВБХТ в 0,78 и 0,8 раз, соответственно ($p=0,06$, $p=0,09$, соответственно) (Таблица 21).

Таблица 21 – Уровни экспрессии маркеров опухолевых клеток во втором перитонеальном смыве у пациентов исследуемых групп с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки рТ4

Маркеры	Группы				Отношение маргинальных средних (95% ДИ)	p
	Основная		Контрольная			
	Маргинальное среднее, ед.фл.	95% ДИ	Маргинальное среднее, ед.фл.	95% ДИ		
CD133	5,6	4,7–6,7	8,7	7,0–11,1	0,6 (0,42–0,84)	0,003
CD184	4,5	4,1–5,1	4,5	4,0–5,1	1,01 (0,81–1,26)	0,9
CD24	5,2	4,6–6,0	6,4	5,4–7,7	0,78 (0,6–1,02)	0,06

CD26	5,4	4,7–6,2	6,5	5,5–7,8	0,8 (0,61–1,04)	0,09
CD44	6,6	4,8–9,1	10,9	7,4–16,5	0,6 (0,31–1,01)	0,05

У больных раком ободочной кишки с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки рТ4 было отмечено снижение экспрессии маркеров CD133, CD24, CD26, CD44 после проведения ВБХТ, что свидетельствует о достоверном уменьшении туморогенной и пролиферативной способности интраперитонеальных СОК.

3.2. Взаимосвязь экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток у больных раком ободочной кишки с клинико-морфологическими характеристиками колоректального рака

При сопоставлении уровней экспрессии CD133, CD184, CD24, CD26, CD44 в первом перитонеальном смыве с возрастом, ИМТ, количеством пораженных лимфатических узлов статистически значимой корреляционной связи выявлено не было. Согласно результатам проведенного корреляционного анализа между уровнями экспрессии CD26 и максимальным размером опухоли, присутствовала обратная корреляционная связь низкой тесноты ($p=0,04$). Однако, принимая во внимание полученное значение коэффициента корреляции Спирмена ($r_{xy}=-0,22$), выявленную корреляционную связь следует признать незначимой (Таблица 22).

Таблица 22 – Взаимосвязь между экспрессией маркеров СОК и клинико-морфологическими характеристиками колоректального рака

Характеристика	CD133		CD184		CD24		CD26		CD44	
	r_{xy}	p	r_{xy}	p	r_{xy}	p	r_{xy}	p	r_{xy}	p
возраст	-0,01	0,9	-0,13	0,2	0,03	0,8	0,12	0,3	-0,09	0,4
ИМТ	0,11	0,3	-0,05	0,6	0,04	0,7	0,09	0,4	0,10	0,3
Максимальный размер опухоли, см	-0,04	0,7	-0,20	0,06	-0,06	0,6	-0,22	0,04	-0,01	0,9
pN+	0,01	0,9	-0,03	0,8	-0,11	0,3	0,02	0,8	-0,04	0,7

r_{xy} – коэффициент корреляции Спирмена

В результате оценки влияния клинико-морфологических характеристик, представленных в виде категориальных значений, на показатели экспрессии маркеров в первом перитонеальном смыве были выявлены статистически значимые различия экспрессии маркеров СОК у пациентов (Таблица 19). Так, экспрессия маркеров CD184 и CD24 значимо возрастала у лиц мужского пола ($p=0,0009$, $p=0,03$) (Таблица 19). Другие клинические показатели пациентов существенного влияния на экспрессию маркеров СОК не имели (Таблица 23).

Таблица 23 – Зависимость экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток в первом перитонеальном смыве от клинических показателей пациентов в сравниваемых группах

Переменные		CD133 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD184 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD24 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD26 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD44 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)
Пол	ж	3,48 (1,88;10,3) $p=0,2$	2,05 (1,59;2,79) $p=0,0009$	2,55 (1,86;3,91) $p=0,03$	5,02 (2,64;7,36) $p=0,7$	7,19 (2,26;20,8) $p=0,6$
	м	5,49 (2,15;12,5) $p=0,2$	2,82 (2,04;3,44) $p=0,0009$	3,65 (2,53;4,59) $p=0,03$	4,42 (3,24;7,9) $p=0,7$	8,51 (3,05;22,2) $p=0,6$
Стадия заболева ния	IIА	3,67 (1,9;12,15) $p=0,7$	2,32 (1,94;3,09) $p=0,9$	3,17 (2,43;4,75) $p=0,9$	3,79 (3,01;7,6) $p=0,9$	12,0 (3,3;19,65) $p=0,2$
	IIВ	9,5 (3,7;11,57) $p=0,6$	2,37 (1,96;2,85) $p=0,9$	3,01 (2,2;4,91) $p=0,9$	6,67 (3,03;10,8) $p=0,9$	19,5 (3,05;26,8) $p=0,2$
	IIС	2,04 (1,93;6,73) $p=0,7$	2,88 (2,28;3,07) $p=0,9$	3,86 (2,76;4,01) $p=0,9$	4,32 (3,12;5,92) $p=0,9$	2,64 (1,61;4,53) $p=0,2$
	IIIА	2,76 (2,76;2,76) $p=0,7$	2,22 (2,22;2,22) $p=0,9$	3,05 (3,05;3,05) $p=0,9$	6,56 (6,56;6,56) $p=0,9$	2,1 (2,1;2,1) $p=0,2$
	IIIВ	5,25 (1,91;13,7) $p=0,7$	2,15 (1,93;2,86) $p=0,9$	3,58 (2,58;4,35) $p=0,9$	5,31 (2,81;8,41) $p=0,9$	6,45 (2,1;23,33) $p=0,2$
	IIIС	5,02 (2,0;12,07) $p=0,7$	2,43 (1,87;3,32) $p=0,9$	3,21 (2,27;4,07) $p=0,9$	4,83 (2,81;7,25) $p=0,9$	11,1 (2,64;20,8) $p=0,2$

	IV	3,64 (2,05;5,28) p=0,7	2,02 (1,31;5,2) p=0,9	1,9 (1,72;5,84) p=0,9	4,05 (3,44;4,98) p=0,9	3,2 (2,26;7,19) p=0,2
Заболевания эндокринной системы	нет	4,08 (2,05-12,0) p=0,9	2,25 (1,91;3,22) p=0,9	3,01 (2,18;4,5) p=0,4	4,42 (2,85;8,0) p=0,7	7,19 (2,7;20,8) p=0,7
	есть	3,48 (2,02;11,2) p=0,9	2,62 (2,05;2,92) p=0,9	3,91 (2,53;4,27) p=0,4	5,02 (3,77;6,68) p=0,7	10,1 (2,29;22,2) p=0,7
Заболевания мочеполовой системы	нет	3,92 (2,0;11,7) p=0,5	2,32 (1,91;3,19) p=0,8	3,23 (2,19;4,57) p=0,7	4,65 (2,93;7,5) p=0,5	7,32 (2,58;20,6) p=0,3
	есть	9,21 (5,3;12,15) p=0,5	2,24 (2,2;2,52) p=0,8	3,64 (3,39;3,71) p=0,7	5,57 (3,71;7,97) p=0,5	22,75 (17,3;23,9) p=0,3
Заболевания органов дыхания	нет	4,07 (1,99;11,9) p=0,5	2,25 (1,91;3,02) p=0,4	3,03 (2,2;4,3) p=0,1	4,83 (2,99;7,38) p=0,9	7,32 (2,6;20,72) p=0,6
	есть	4,79 (3,5;10,96) p=0,5	3,12 (2,29;3,71) p=0,4	4,82 (4,06;5,29) p=0,1	4,14 (3,01;7,32) p=0,9	18,2 (5,1;22,65) p=0,6
Заболевания сердечно- сосудистой системы	нет	4,08 (1,9;11,2) p=0,9	2,27 (1,83;2,96) p=0,9	2,98 (1,9;4,79) p=0,7	4,78 (3,07;8,31) p=0,5	10,35 (2,68;20,7) p=0,7
	есть	3,68 (2,03;12,0) p=0,9	2,29 (1,94;3,23) p=0,9	3,41 (2,43;4,40) p=0,6	4,52 (2,79;7,36) p=0,5	6,62 (2,3;22,5) p=0,7

Отмечено, что при увеличении показателя индекса прорастания кишечной стенки (с T3 до T4) экспрессия маркеров CD133, CD184, CD24, CD26, CD44 повышается, однако различия были статистически незначимы. Остальные морфологические характеристики опухоли существенного влияния на экспрессию маркеров СОК не имели (Таблица 24).

Таблица 24 – Зависимость экспрессии маркеров свободных опухолевых клеток сравниваемых группах от морфологических характеристик опухоли в сравниваемых группах

Характеристика	CD133 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD184 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD24 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD26 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)	CD44 (Me, Q ₁ -Q ₃ , p)
----------------	--	--	---	---	---

Степень дифференцировки опухоли	2	4,08 (2,0;12,05) p=0,4	2,23 (1,85;3,3) p=0,5	3,42 (2,19;5,19) p=0,6	5,11 (2,92;8,17) p=0,6	8,97 (2,69;20,5) p=0,2
	3	5,95 (2,2;11,97) p=0,4	2,75 (2,04;3,82) p=0,5	3,72 (2,67;4,09) p=0,6	5,34 (3,34;8,06) p=0,6	18,10 (4,6;25,25) p=0,2
	Слизистая	2,14 (1,7;10,29) p=0,4	2,76 (2,18;2,9) p=0,5	2,77 (2,1;3,87) p=0,6	4,25 (3,3;5,73) p=0,6	2,67 (1,97;10,0) p=0,2
M	0	4,08 (2,0;12,05) p=0,2	2,27 (1,93;3,0) p=0,9	3,41 (2,26;4,4) p=0,8	4,89 (2,91;8,0) p=0,54	9,55 (2,64;22,5) p=0,1
	1	2,24 (2,11;5,03) p=0,2	2,68 (1,49;4,74) p=0,9	2,76 (1,77;5,29) p=0,8	3,59 (3,54;4,52) p=0,5	2,73 (1,9;6,19) p=0,1
N	0	3,92 (2,04;11,2) p=0,5	2,37 (1,91;3,0) p=0,7	3,65 (2,28;4,8) p=0,6	4,25 (3,0;8,34) p=0,4	10,10 (2,92;22,2) p=0,1
	1	3,12 (1,89-7,2) p=0,5	2,72 (1,95;3,76) p=0,7	3,58 (2,27;4,43) p=0,6	3,80 (2,48;6,55) p=0,4	2,99 (2,0;12,79) p=0,1
	2	6,22 (2,14;13,1) p=0,5	2,16 (1,89;3,04) p=0,7	2,89 (2,05;3,75) p=0,6	5,19 (3,73;7,77) p=0,4	11,6 (2,85;23,7) p=0,1
T	3	3,67 (2,06;12,2) p=0,8	2,25 (1,95;2,99) p=0,9	3,23 (2,5;4,4) p=0,5	4,62 (2,81;8,26) p=0,9	6,89 (2,68;20,5) p=0,9
	4	4,79 (2,02;11,3) p=0,8	2,5 (1,82;3,32) p=0,9	3,51 (1,96;4,74) p=0,5	4,65 (3,06;7,18) p=0,9	9,55 (2,34;22,4) p=0,9
Локализация опухоли	ЛООК	6,06 (2,08;12,8) p=0,09	2,22 (1,91;3,06) p=0,6	3,62 (2,3;4,89) p=0,4	5,42 (3,08;8,13) p=0,2	10,35 (2,74;22,5) p=0,1
	ПООК	2,89 (1,97;10,0) p=0,09	2,74 (1,86;3,23) p=0,6	2,97 (1,99;3,93) p=0,3	3,72 (2,65;6,85) p=0,2	4,59 (2,04;18,3) p=0,1
Венозная инвазия	нет	3,92 (2,03;11,3) p=0,7	2,25 (1,91;3,28) p=0,8	3,62 (2,28;4,93) p=0,2	4,42 (3,05;7,37) p=0,8	9,44 (2,63;20,4) p=0,6
	есть	4,55 (2,0;12,27) p=0,7	2,62 (1,93;2,99) p=0,8	2,89 (2,02;3,89) p=0,2	5,03 (2,9;8,13) p=0,8	7,44 (2,56;23,0) p=0,6

Лимфо- вакул- ярная инвази- я	нет	3,47 (1,9;11,2) p=0,6	2,3 (1,81;3,22) p=0,4	3,75 (2,37;4,91) p=0,5	3,81 (3,01;7,36) p=0,6	10,7 (2,64;22,2) p=0,8
	есть	4,55 (2,1;12,05) p=0,6	2,25 (1,94;3,08) p=0,4	3,01 (2,2;4,37) p=0,5	5,11 (2,96;7,64) p=0,6	7,19 (2,56;20,8) p=0,8
Перине- вральной инвази- я	нет	4,06 (1,99;11,6) p=0,5	2,50 (1,94;3,12) p=0,3	3,63 (2,35;4,92) p=0,06	4,33 (2,79;7,64) p=0,6	9,09 (2,6;20,47) p=0,8
	есть	5,03 (2,24;12,0) p=0,5	2,05 (1,7;3,15) p=0,3	2,73 (1,88;3,63) p=0,06	5,11 (3,54;6,56) p=0,6	6,50 (2,3;25,3) p=0,8
Периф- окаль- ное воспал- ение	нет	5,29 (2,1;12,53) p=0,6	2,67 (2,01;3,35) p=0,1	3,51 (2,45;4,52) p=0,7	4,65 (3,08;8,13) p=0,7	12,75 (2,6;22,77) p=0,1
	есть	3,62 (1,9;10,58) p=0,6	2,22 (1,67;2,96) p=0,1	3,03 (2,05;4,41) p=0,7	4,65 (2,86;7,18) p=0,7	5,75 (2,2;19,35) p=0,1

ЛООК – левые отделы ободочной кишки, ПООК – правые отделы ободочной кишки

3.3. Частота и структура послеоперационных осложнений у пациентов исследуемых групп

В послеоперационном периоде развилось 16 (32%) и 10 (25%) осложнений в основной и контрольной группе, соответственно (p=0,5). При этом у одного больного основной группы зафиксировано 2 осложнения (Таблица 25). Ни одного случая несостоятельности кишечного анастомоза, интра- и послеоперационной летальности выявлено не было.

Как в основной, так и в контрольной группе, в послеоперационном периоде чаще развивался парез желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – в 3/50 (6%) и 6/40 (15%) наблюдениях, соответственно, однако различия были статистически незначимыми (p=0,1), что может свидетельствовать об отсутствии негативного воздействия ВБХТ на моторно-эвакуаторную функцию ЖКТ. Гематологическая токсичность II–III степени по шкале токсичности СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) была отмечена в 3/50 (6%) наблюдениях в основной группе и не потребовала назначения стимулирующих гемопоэз препаратов.

Полученные данные коррелируют с мировыми, где частота этого показателя не превышает 10% [21, 42].

Стоит подчеркнуть, что развитие данного осложнения у 6% пациентов, получивших ВБХТ, не изменило их схему лечения. Все больные в дальнейшем получили адьювантную химиотерапию. Также, в основной группе у двух (13%) пациентов наблюдался краевой некроз престомального отдела кишки. Развитие некроза у одного из этих больных потребовало экстренного хирургического вмешательства в объеме резекции участка кишки с реколостомией. В дальнейшем послеоперационный период протекал без осложнений. Также, в одном (6,7%) наблюдении в основной группе на 7 сутки после операции была диагностирована подкожная эвентрация, что потребовало выполнения срочной операции – ушивания передней брюшной стенки. В дальнейшем у пациента развилась нижнедолевая пневмония. Проводимые антибактериальная, противогрибковая терапия, инфузия парентерального питания были успешны – пациент выписан на 43 сутки в удовлетворительном состоянии. Другие осложнения в основной группе, такие как нейрогенная задержка мочеиспускания, тромботическая окклюзия артерий нижней конечности, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, каждое из которых развилось в одном наблюдении, были купированы консервативными мероприятиями.

В контрольной группе у двоих больных развилась инфекция области хирургического вмешательства – абсцесс брюшной полости и флегмона боковой стенки живота, по одному наблюдению. В одном случае на 3 сутки после комбинированной субтотальной гемиколэктомии с резекцией хвоста поджелудочной железы отмечены рост уровня лейкоцитов крови до $30,6 \times 10^9/\text{л}$, С-реактивного белка до 164 мг/л и пресепсина до 1456 пг/мл. При КТ заподозрен абсцесс в области операции. Учитывая вышеизложенное, была выполнена релапаротомия. В области резекции хвоста поджелудочной железы выявлен абсцесс, выполнены санация и дренирование брюшной полости. В дальнейшем послеоперационный период протекал гладко и на 23 день после операции

пациент был выписан. В другом наблюдении на 2 сутки после комбинированной левосторонней гемиколэктомии по типу операции Гартмана с резекцией подвздошной кишки, стенки мочевого пузыря, микроволновой абляции метастаза S7 печени были отмечены гиперемия и отечность подкожной клетчатки правой боковой области живота, в анализах крови – рост уровня С-реактивного белка до 184 мг/л. Был установлен диагноз – флегмона и произведено ее вскрытие. Проводимые в послеоперационном периоде антибактериальная и противовоспалительная терапия, коррекция водно-электролитных и метаболических расстройств были эффективны. Все больные выписаны для продолжения лечения в амбулаторных условиях.

Также, в одном наблюдении в контрольной группе на 6 сутки после лапароскопической правосторонней гемиколэктомии была заподозрена несостоятельность кишечного анастомоза, по поводу чего выполнена экстренная операция. При осмотре ранее сформированного аппаратного илеотрансверзоанастомоза дефектов в стенке кишки выявлено не было, на 120 см проксимальнее анастомоза было визуализировано перфоративное отверстие в стенке тонкой кишки до 0,1 см в диаметре. Произведено ушивание дефекта стенки кишки, санация и дренирование брюшной полости. Пациентка была выписана в удовлетворительном состоянии на 7 день после срочной операции под наблюдение онколога по месту жительства.

У 3 больных основной группы и у 1 контрольной в послеоперационном периоде возникали пароксизмы мерцательной аритмии, купированные инфузией амиодарона, группы по этому признаку не различались ($p=0,6$).

Статистически значимых различий в отношении частоты развития послеоперационных осложнений между группами не было ($p=0,4$) (Таблица 25).

Таблица 25 – Виды послеоперационных осложнений в группах

Характер осложнения	Основная (n=50)	Контрольная (n=40)	p
Парез ЖКТ	3 (6%)	6 (15%)	0,5
Гематологическая токсичность	3 (6%)	0	0,3

Некроз престомального отдела кишки	2 (4%)	0	0,5
Пузырно-мочеточниковый рефлюкс	1 (2%)	0	1,0
Тромботическая окклюзия магистральных сосудов нижней конечности	1 (2%)	0	1,0
Нейрогенная задержка мочеиспускания	1 (2%)	0	1,0
Эвентрация передней брюшной стенки	1 (2%)	0	1,0
Абсцесс брюшной полости	0	1 (2,5%)	0,4
Флегмона боковой стенки живота	0	1 (2,5%)	0,4
Пароксизм мерцательной аритмии	3 (6%)	1 (2,5%)	0,6
Перфорация тонкой кишки	0	1 (2,5%)	0,4
Пневмония	1 (2%)	0	1,0
Всего	16 (32%)	10 (25%)	0,5

Статистически значимых различий в частоте возникновения послеоперационных осложнений I, II, IIIa и IIIb, IVA степени по шкале Clavien-Dindo так же выявлено не было (Таблица 26).

Таблица 26 – Частота послеоперационных осложнений по шкале Clavien-Dindo в группах

Степень тяжести осложнения по шкале Clavien-Dindo	Основная	Контрольная	p
I	4 (8,0%)	3 (7,5%)	1,0
II	5 (10,0%)	3 (7,5%)	0,3
IIIa	2 (4,0%)	0 (0%)	0,5

ШВ	2 (4,0%)	3 (7,5%)	0,7
IVA	3 (6,0%)	1 (2,5%)	1,0
Всего	16 (32%)	10 (25%)	

3.4. Факторы, ассоциированные с развитием осложнений

Принимая во внимание тот факт, что достоверных различий по частоте развития осложнений между группами не выявлено, нами был осуществлен анализ факторов, включая факт проведения ВБХТ, которые потенциально могли оказывать влияние на развитие осложнений у пациентов обеих групп, включенных в настоящее исследование.

При унивариантном анализе было установлено, что наличие отдаленных метастазов (ОШ=5,6, 95% ДИ: 1,03–42,74, $p=0,05$), длительность операции (ОШ=1,77, 95% ДИ: 1,24–2,63, $p=0,003$), открытая операция (ОШ=4,29, 95% ДИ: 1,59–13,03, $p=0,006$), комбинированная операция (ОШ=4,09, 95% ДИ: 1,59–11,0, $p=0,004$), объем кровопотери (на каждые 100 мл) (ОШ=3,3, 95% ДИ: 1,57–8,46, $p=0,006$), наличие заболеваний эндокринной системы (ОШ=2,72, 95% ДИ: 0,9–8,18, $p=0,07$), наличие заболеваний органов дыхания (ОШ=5,64, 95% ДИ: 1,03–42,74, $p=0,05$) увеличивали риск развития осложнений. При этом проведение ВБХТ не оказывало влияния на частоту развития осложнений ($p=0,8$) (Таблица 27).

Далее был проведен многофакторный регрессионный анализ с включением факторов, влияние которых на развитие осложнений было подтверждено при однофакторном анализе. Так, было выявлено, что независимым фактором, влияющим на частоту развития осложнений оказалась лишь длительность операции (ОШ=1,74, 95% ДИ 1,07–3,08, $p=0,04$). Данный показатель косвенно свидетельствует о большем, по сравнению со стандартным, объеме оперативного вмешательства, что, в свою очередь, может реализоваться в большую частоту послеоперационных осложнений (Таблица 27).

Таблица 27 – Логистический регрессионный анализ факторов риска развития осложнений у пациентов обеих групп ($n=90$)

Фактор	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОШ 95% ДИ	р	ОШ 95% ДИ	Р
Мужской пол	0,63 (0,25–1,56)	0,3		
Возраст	1,03 (0,99–1,07)	0,2		
ИМТ	1,03 (0,94–1,13)	0,5		
ASA III	1,89 (0,68–5,14)	0,2		
ECOG	0,91 (0,19–3,48)	0,9		
Проведение ВБХТ	1,13 (0,45–2,89)	0,8		
T4	0,59 (0,23–1,47)	0,3		
M1	5,64 (1,03–42,74)	0,05	1,35 (0,15–13,93)	0,8
Длительность операции	1,77 (1,24–2,63)	0,003	1,74 (1,07–3,08)	0,04
Открытая операция	4,29 (1,59–13,03)	0,006	0,27 (0,06–1,06)	0,07
Комбинированная операция	4,09 (1,59–11,0)	0,004	1,02 (0,24–4,05)	0,9
Объем кровопотери (на каждые 100 мл)	3,30 (1,57–8,46)	0,006	1,51 (0,65–4,14)	0,4
Локализация опухоли в левой половине ободочной кишки	1,75 (0,64–5,34)	0,3		
Перифокальное воспаление	1,21 (0,48–3,03)	0,7		
Заболевания сердечно-сосудистой системы	1,15 (0,42–3,34)	0,8		
Заболевания эндокринной системы	2,72 (0,90–8,18)	0,07		
Заболевания органов дыхания	5,64 (1,03–42,74)	0,05	7,55 (0,81–94,27)	0,1
Заболевания мочеполовой системы	8,22 (1,0–170,76)	0,07		

Важно отметить, что вышеприведенный анализ рассматривает лишь одномерную и двумерную связи между потенциальными факторами, без учета эффекта взаимодействия – вида многомерной связи, при котором влияние факторов на развитие осложнений опосредовано и изменяется под воздействием другой переменной (фактора). Таким образом, для оценки влияния ВБХТ на осложнения был дополнительно проведен логистический регрессионный анализ факторов риска развития осложнений между группами с учетом эффекта взаимодействия между потенциальными факторами и проведением ВБХТ в основной группе.

Проведенный анализ позволил установить, что такие факторы, как формирование кишечной стомы, резекция соседних органов, тип операции, наличие заболеваний эндокринной системы, степень анестезиологического риска по ASA, физический статус пациента по шкале ECOG, критерий T, оценивающий глубину инвазии опухолью кишечной стенки, не оказывали влияние на частоту развития осложнений вне зависимости от факта выполнения ВБХТ. Было выявлено, что мужской пол значимо повышал шанс развития осложнений при проведении ВБХТ (ОШ=5,28, 95% ДИ: 3,45–8,08, $p=0,0001$). Наличие заболеваний сердечно-сосудистой системы и органов дыхания также увеличивало вероятность развития осложнений при проведении ВБХТ – ОШ=2,25, 95% ДИ: 1,39–3,65, $p=0,001$ и ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$, соответственно. Установлено, что наличие отдаленных метастазов и перифокального воспаления повышали шанс развития осложнений при проведении ВБХТ – ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$; ОШ=3,04, 95% ДИ: 2,14–4,31, $p=0,0001$, соответственно. Выявлено, что локализация опухоли в левой половине ободочной кишки увеличивала вероятность развития осложнений при проведении ВБХТ в 1,53 раза (95% ДИ: 1,15–2,04, $p=0,003$) (Таблица 28).

Таблица 28 – Логистический регрессионный анализ факторов риска развития осложнений в сравниваемых группах

Фактор		Группы	ОШ (95% ДИ)	p
Формирование кишечной стомы	Да	Основная / Контрольная	1,09 (0,81–1,47)	0,6
	Нет	Основная / Контрольная	3,0 (1,78–5,06)	0,1
Комбинированная операция	Да	Основная / Контрольная	1,03 (0,72–1,46)	0,9
	Нет	Основная / Контрольная	1,26 (0,88–1,8)	0,2
Тип операции	Открытая	Основная / Контрольная	0,83 (0,61–1,13)	0,2
	Лапароскопическая	Основная / Контрольная	1,12 (0,72–1,75)	0,6
Пол	м	Основная / Контрольная	5,28 (3,45–8,08)	0,00 01
	ж	Основная / Контрольная	0,33 (0,23–0,46)	0, 1
Заболевания сердечно-сосудистой системы	да	Основная / Контрольная	2,25 (1,39–3,65)	0,00 1
	нет	Основная / Контрольная	0,89 (0,67–1,17)	0,4
Заболевания эндокринной системы	да	Основная / Контрольная	1,21 (0,91–1,59)	0,2
	нет	Основная / Контрольная	0,48 (0,28–0,82)	0,08
Заболевания органов дыхания	да	Основная / Контрольная	3,0 (1,19–7,56)	0,02
	нет	Основная / Контрольная	0,99 (0,77–1,27)	0,9
Заболевания мочеполовой системы	0	Основная / Контрольная	0,87 (0,68–1,12)	0,3
	1	Основная / Контрольная	–	–
	II	Основная / Контрольная	0,76 (0,55–1,06)	0,1

Степень анестезиологического риска ASA	III	Основная / Контрольная	1,44 (0,93–2,24)	0,1
ECOG	0	Основная / Контрольная	1,25 (0,97–1,62)	0,08
	1	Основная / Контрольная	0,5 (0,24–1,02)	0,06
T	3	Основная / Контрольная	1,33 (0,95–1,87)	0,09
	4	Основная / Контрольная	1,02 (0,72–1,43)	0,9
M	0	Основная / Контрольная	0,99 (0,77–1,27)	0,9
	1a	Основная / Контрольная	3,00 (1,19–7,56)	0,02
Перифокальное воспаление	есть	Основная / Контрольная	3,04 (2,14–4,31)	0,0001
	нет	Основная / Контрольная	0,47 (0,33–0,66)	0,1
Локализация первичной опухоли в левой половине ободочной кишки		Основная / Контрольная	1,53 (1,15–2,04)	0,003

3.5. Анализ общей и безрецидивной выживаемости, частоты и структуры рецидивов

В рамках проведенного проспективного исследования была проанализирована безрецидивная выживаемость, а также частота и структура рецидивов. Медиана наблюдения пациентов составила 19,9 (14,27–22,78) мес. Анализ показателей двухлетней безрецидивной выживаемости пациентов, выполненный по методу Kaplan–Meier, не выявил статистически значимых различий между группами – 81,6% и 78,8% в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,99$) (Таблица 29, Рисунок 11).

Таблица 29 – Безрецидивная выживаемость пациентов исследуемых групп

Время, мес	Группы	
	Основная (n=50)	Контрольная (n=40)
6	87,5 (95% ДИ 77,8-98,4)	97,1 (95% ДИ 91,8-100,0)
12	85,0 (95% ДИ 74,6-96,8)	88,6 (95% ДИ 78,6-99,8)
18	81,6 (95% ДИ 70,0-95,1)	85,4 (95% ДИ 74,3-98,1)
24	81,6 (95% ДИ 70,0-95,1)	78,8 (95% ДИ 63,9-97,2)

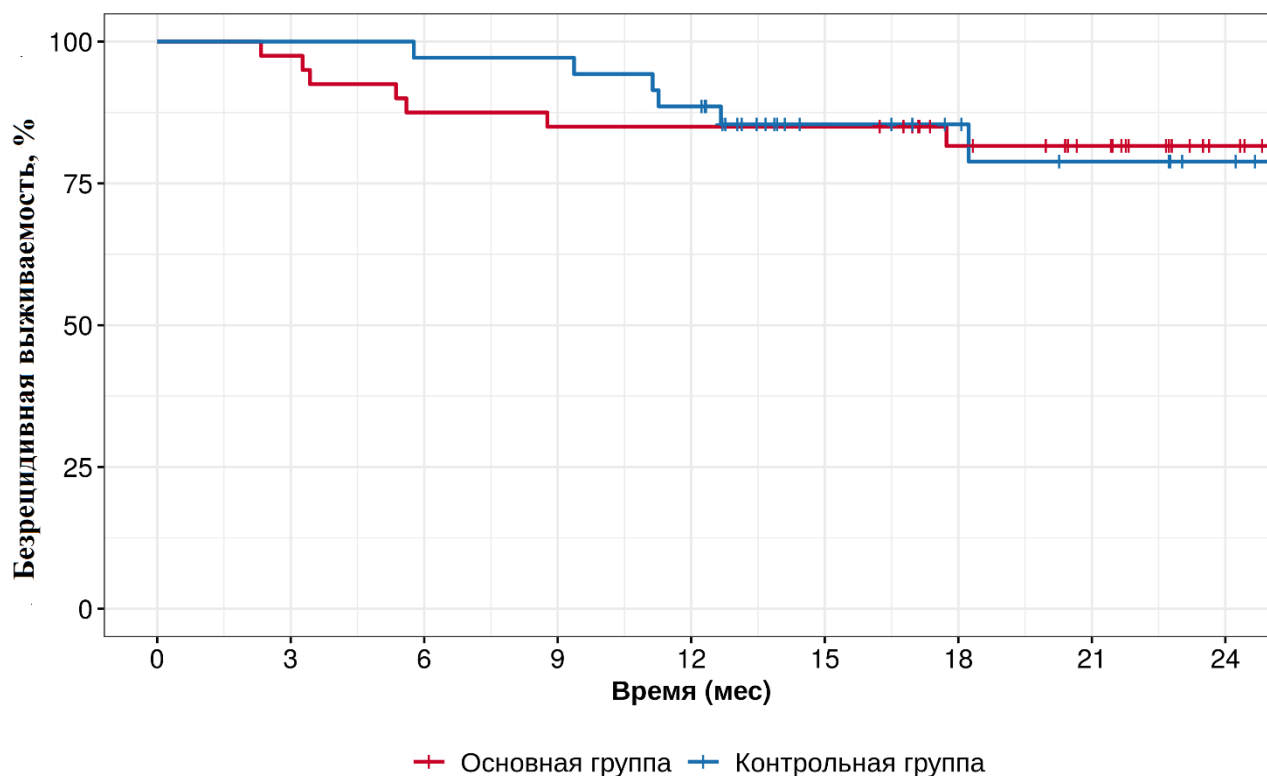


Рисунок 11 – Безрецидивная выживаемость пациентов в исследуемых группах

Принимая во внимание наличие пациентов с отдаленными метастазами в изучаемых группах, дополнительно была осуществлена оценка безрецидивной выживаемости для больных без отдаленных метастазов. Анализ показателей двухлетней безрецидивной выживаемости для этой категории пациентов, выполненный по методу Kaplan–Meier, также не выявил статистически значимых различий между группами – 89,2% и 80,2% в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,6$) (Таблица 30, Рисунок 12).

Таблица 30 – Безрецидивная выживаемость пациентов без отдаленных метастазов в исследуемых группах

Время, мес	Группы	
	Основная (n=46)	Контрольная (n=38)
6	91,9 (95% ДИ 83,5-100,0)	100,0 (95% ДИ 100,0-100,0)
12	89,2 (95% ДИ 79,7-99,8)	90,9 (95% ДИ 81,6-100,0)
18	89,2 (95% ДИ 79,7-99,8)	87,5 (95% ДИ 76,8- 99,8)
24	89,2 (95% ДИ 79,7-99,8)	80,2 (95% ДИ 64,7- 99,5)

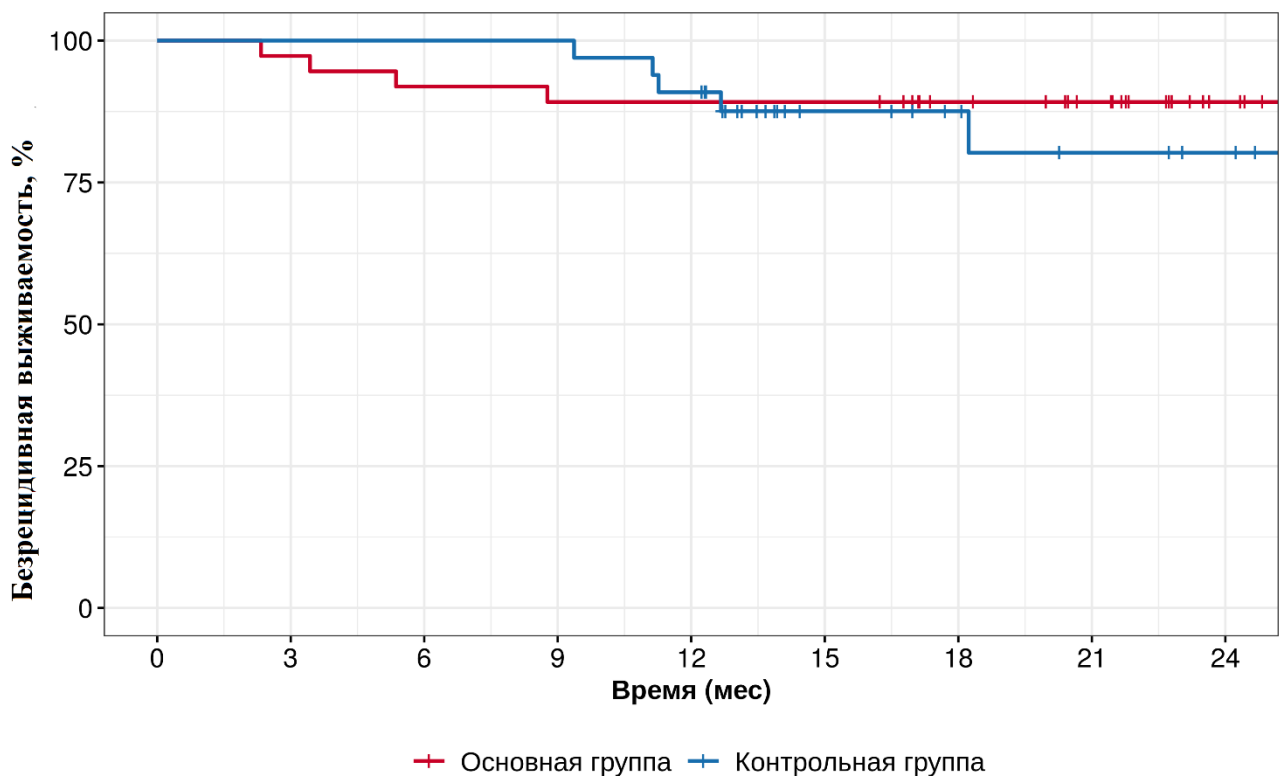


Рисунок 12 – Безрецидивная выживаемость пациентов без отдаленных метастазов в исследуемых группах

Суммарно у 10/90 (11,1%) больных за период наблюдения возникло прогрессирование заболевания. Рецидив заболевания отмечен у 5/50 (10%) пациентов основной и у 5/40 (12,5%) – контрольной группы. Статистически значимых различий выявлено не было ($p=0,7$). Метастазы в печень возникли у 2 пациентов в каждой из анализируемых групп, в легкие – по одному наблюдению в каждой из групп. Рецидив заболевания сразу в печени и легких был

диагностирован у 1 пациента основной группы. Перитонеальный карциноматоз развился у одного больного контрольной группы. Прогрессирование в виде метастаза в яичник отмечено в 1 случае в основной группе, в виде метастатического поражения парааортальных лимфоузлов – у 1 пациента контрольной группы (Таблица 31).

Таблица 31 – Локализация рецидивов заболевания

Локализация рецидива	Группы	
	Основная (n=5/50)	Контрольная (n=5/40)
Легкие	1	1
Печень	2	2
Легкие и печень	1	0
ПК	0	1
Метастаз в яичник	1	0
Метастатическое поражение парааортальных узлов	0	1
Всего	5	5

Анализ показателей двухлетней общей выживаемости пациентов не выявил статистически значимых различий между группами – 89,2% и 87,0% в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,99$) (Таблица 32, Рисунок 13).

Таблица 32 – Общая выживаемость пациентов в исследуемых группах

Время, мес	Группы	
	Основная (n=50)	Контрольная (n=40)
6	95,0 [88,5; 100,0]	100,0 [100,0; 100,0]
12	92,5 [84,7; 100,0]	94,3 [86,9; 100,0]
18	89,2 [79,6; 99,9]	94,3 [86,9; 100,0]
24	89,2 [79,6; 99,9]	87,0 [72,9; 100,0]

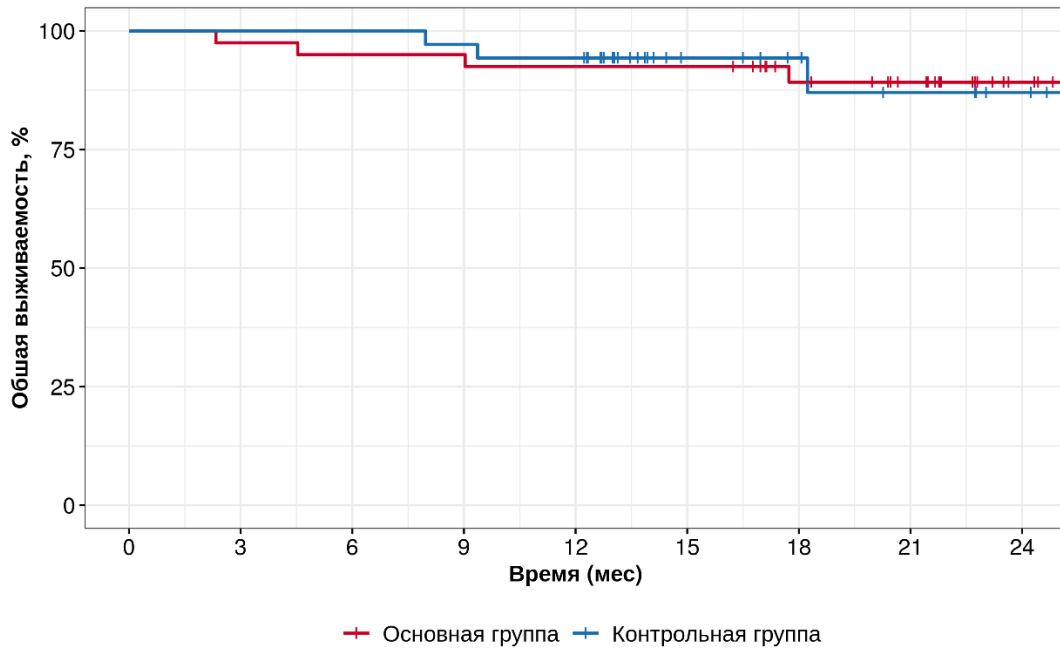


Рисунок 13 – Общая выживаемость пациентов в исследуемых группах

С целью демонстрации клинического значения целесообразности определения экспрессии маркеров СОК рассмотрим подробнее случай развития ПК в контрольной группе.

Пациентка Е. 86 лет № а/к 10244/19 обратилась в июле 2019 года в ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России с жалобами на схваткообразные боли в левой подвздошной области, запоры в течение 3 месяцев. Больная была комплексно обследована.

При колоноскопии от 26.07.2019 г.: колоноскоп проведен до уровня дистальной трети поперечной ободочной кишки. Дальнейшее продвижение аппарата прекращено из-за наличия на данном уровне дистального полюса опухоли, стенозирующей просвет до 1,0 см в диаметре. Опухоль неправильной формы, красного цвета, с неровной поверхностью, при инструментальной пальпации плотной консистенции с выраженной контактной кровоточивостью.

При патоморфологическом исследовании биопсийного материала из опухоли толстой кишки выявлены комплексы аденокарциномы.

При КТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза от 27.07.2019 г. было подтверждено наличие опухоли дистальной трети поперечной ободочной кишки с инвазией в клетчатку, вовлечением серозной оболочки,

выраженным перифокальным воспалением, наличием увеличенных до 1 см в диаметре, по всей видимости, метастатически пораженных лимфатических узлов в брыжейке поперечной ободочной кишки. Очаговых образований в легких и печени выявлено не было.

В анализах крови отмечалось незначительное снижение уровня гемоглобина – 108 г/л, эритроцитов – $3,8 \times 10^{12}$ /л, а также имело место повышение уровня раковоэмбрионального антигена до 17,7 нг/мл.

Таким образом, на основании данных комплексного обследования пациентке был установлен диагноз: Рак дистальной трети поперечной ободочной кишки cT4N2bM0. Вторичная анемия легкой степени тяжести.

На основании жалоб, анамнеза, данных осмотра и инструментального обследования больного, учитывая локализацию опухоли, степень распространенности опухолевого процесса, стадию заболевания, а также стандарты и клинические рекомендации по лечению, были сформулированы показания к хирургическому лечению.

Пациентка была включена в контрольную группу, в соответствии с дизайном настоящего исследования ВБХТ ей не проводилась.

06.08.2019 г. под комбинированной анестезией больная была оперирована. При интраоперационной ревизии выпота, отдаленных метастазов, опухолевых узлов в брюшной полости и полости малого таза выявлено не было. На границе средней и дистальной трети поперечной ободочной кишки была обнаружена циркулярная опухоль, около 7 см в диаметре, визуально прорастающая все слои кишечной стенки. Была выполнена левосторонняя гемиколэктомия с формированием ручного трансверзосигмоидного анастомоза по типу "конец-в-конец". На 3 день после операции у пациентки развился пароксизм мерцательной аритмии, купированный болюсным введением амиодарона. В дальнейшем течение послеоперационного периода – без особенностей. В удовлетворительном состоянии больная была выписана на 9 сутки после операции.

При патоморфологическом исследовании операционного препарата в опухоли поперечной ободочной кишки была выявлена слизистая аденокарцинома с большим количеством перстневидных клеток, глубоким изъязвлением, прорастанием стенки кишки, инвазией серозы, врастанием в подпаянную прядь большого сальника, врастанием в брыжейку кишки с вовлечением брюшины, массивной лимфоваскулярной инвазией в стенке и брыжейке толстой кишки, экстрамуральной венозной и периневральной инвазией, обрастанием опухолью крупных сосудов брыжейки толстой кишки. Края резекции кишки, край сосудистого пучка брыжейки толстой кишки были интактны. В 19 из 37 лимфоузлов брыжейки толстой кишки - метастазы слизистого рака с частичным и полным замещением лимфоидной ткани, выходом опухоли за капсулу в части узлов. Таким образом, опухоль толстой кишки была стадирована в соответствии с классификацией AJCC TNM 8 редакции, как слизистая аденокарцинома поперечной ободочной кишки Grade 3, pT4apN2b(19/37)cM0, L1, V1, Pn1, R0.

Учитывая данные анамнеза, объем проведенного обследования, данные интраоперационной ревизии, данные гистологического исследования, пациентке было показано проведение адъювантной химиотерапии по схемам на основе оксалиплатина и фторпиримидинов (CAPOX/FOLFOX-6/FOLFOX-4) через 4–5 недель после операции на протяжении 6 мес. (8/12 курсов).

Больная отказалась от прохождения назначенной схемы адъювантной химиотерапии.

Через 6 месяцев, в феврале 2020 г., пациентка повторно обратилась в ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России с жалобами на тянущую боль в области послеоперационной раны. На момент осмотра состояние было удовлетворительным, кожные покровы бледно-розовыми. Температура тела – 36,6 С. Дыхательных и гемодинамических нарушений отмечено не было: частота дыхательных движений была 16 в мин., частота сердечных сокращений – 68 уд. в мин., артериальное давление – 120/80 мм рт.ст.

Язык был влажным, живот не вздутым, мягким, умеренно болезненным в левых отделах. Стул был регулярный, без патологических примесей. Дизурических нарушений не было. Минилапаротомный рубец на передней брюшной стенке без особенностей.

При КТ грудной клетки, органов брюшной полости и малого таза от 04.03.2020 г. в области ранее сформированного трансверзосигмоидного анастомоза был выявлен внекишечный опухолевый узел неоднородной структуры с муцинозным компонентом с неровными тяжистыми контурами, размерами 4,5x3,7 см, с вовлечением стенки антрального отдела желудка. Опухолевая инфильтрация распространялась также кзади по ходу сосудов брыжейки кишки на глубину до 1,5 см. В брыжейке нисходящей ободочной кишки, на уровне межпозвонкового диска L4-L5, по паравертебральной линии слева, определялась опухолевая инфильтрация, размерами 4,0x1,8 см. В легких были обнаружены не определявшиеся ранее очаги, подозрительные на метастатические, однако часть из них имела вид фиброзных изменений. Клиническая ситуация была расценена как прогрессирование заболевания с развитием метастатического карциноматоза (Рисунок 14).

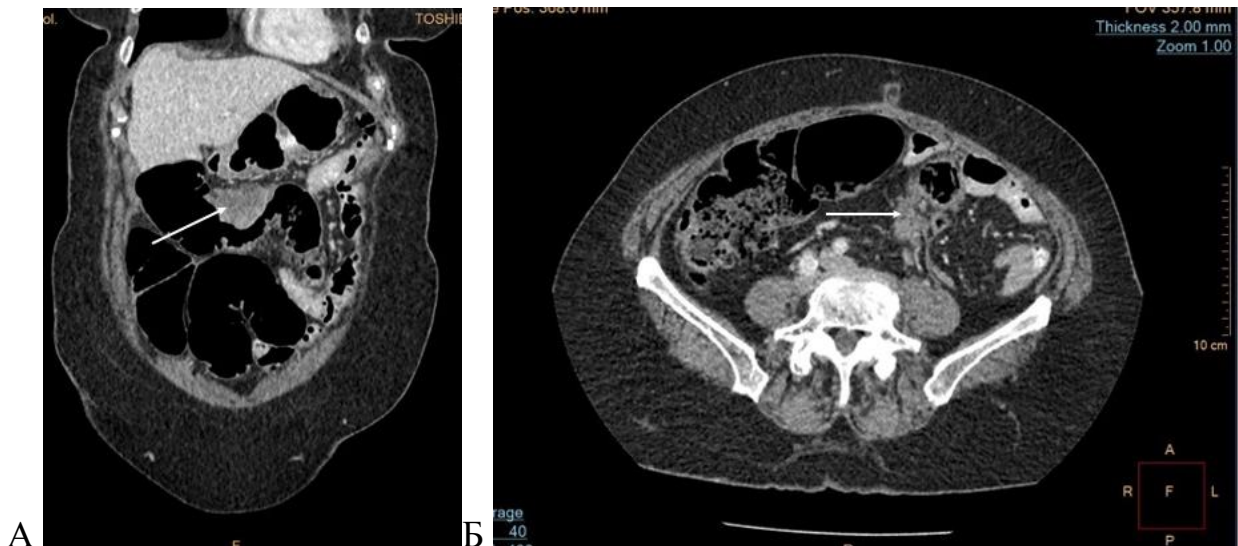


Рисунок 14 – Компьютерная томограмма пациентки Е. (А – коронарная проекция, Б - аксиальная проекция), стрелками указаны карциноматозные узлы

Рассматривался вопрос о целесообразности выполнения циторедуктивной операции, однако в апреле 2020 г. больная была госпитализирована бригадой

скорой медицинской помощи в городскую больницу г. Москва с клиникой кишечной непроходимости, где погибла вследствие кишечной непроходимости, которая осложнилась перфорацией толстой кишки и развитием перитонита.

Анализируя данное клиническое наблюдение, следует отметить, что у пациентки помимо морфологически подтверждённого полностенного прорастания опухолью кишечной стенки имелись и другие, описанные в литературе факторы риска развития ПК: наличие слизистой дифференцировки опухоли и метастатического поражения регионарных ЛУ [10, 54, 95, 138]. ПК в данном наблюдении развился спустя 9 мес. с момента выполнения операции, что является неблагоприятным прогностическим фактором [54, 134]. Иммунологическое исследование перитонеальных смывов показало увеличение содержания интраперитонеальных СОК – с 2748 до 3255, что является негативным прогностическим фактором по данным литературы [17,18,123]. В отношении маркеров было продемонстрировано отсутствие динамики изменения их экспрессии: CD184 (с 2,08 до 2,1 ед.фл.), CD44 (с 29,2 до 30,6 ед.фл.), CD24 (с 3,91 до 3,84 ед.фл.), CD133 (с 16 до 16 ед.фл.) во втором смыве. Снизился лишь уровень экспрессии CD26 (с 8,29 до 7,18 ед.фл.).

Иммунологическое исследование перитонеальных смывов продемонстрировало отсутствие динамики изменения уровня экспрессии маркеров СОК во втором перитонеальном смыве, что свидетельствует о сохранении способности интраперитонеальных СОК к миграции и инвазии в конце операции ввиду активации адаптивной пластичности опухолевых клеток и эпителиально-мезенхиального перехода и, как следствие, возможность реализации этого обстоятельства в виде развития ПК.

Таким образом, данный пример демонстрирует значимость проведения ВБХТ у пациентов с раком ободочной кишки, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которого на этапе обследования была определена как Т4, как предиктивной меры перитонеальной диссеминации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В структуре общей онкологической заболеваемости в 2020 году рак ободочной кишки занял 4 место в РФ, составив 6% всех локализаций злокачественных новообразований [2]. До настоящего времени выявление колоректального рака на ранней стадии отмечается в относительно небольшом проценте случаев, тогда как 26% пациентов обращается за помощью уже при четвертой стадии заболевания, когда имеются отдаленные метастазы [2]. Брюшина является третьей по распространённости локализацией отдаленного метастазирования у пациентов с КРР, частота поражения брюшины при этом достигает 25% от всех случаев отдаленных метастазов [8, 39]. Поиск факторов риска развития перитонеальной диссеминации при КРР, как возможной точки приложения воздействия на метастатический каскад, представлял собой сложный вопрос в течение длительного времени. Рядом авторов было продемонстрировано, что индекс прорастания опухолью кишечной стенки T4 ассоциирован с развитием ПК [54, 95, 121, 138, 146]. В качестве предиктивной меры перитонеальной диссеминации рассматривается профилактическая интра- или ранняя послеоперационная внутрибрюшная химиотерапия (ВБХТ) [98]. Исследования, оценивающие эффективность проведения ВБХТ при опухолях ободочной кишки, прорастающих все слои кишечной стенки или соседние органы и структуры, немногочисленны и демонстрируют неоднородные результаты [81, 98]. В связи с вышеизложенным, актуальным представляются результаты проведенного с ноября 2017 по август 2020 гг. в ФГБУ «НМИЦ колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России проспективного сравнительного исследования, целью которого стало обоснование эффективности проведения внутрибрюшной химиотерапии при раке ободочной кишки у пациентов с глубиной инвазией опухолью кишечной стенки сT4. Общее количество больных составило 90 человек, в основную группу было включено 50 пациентов, а в контрольную – 40. Всем им выполнялось оперативное вмешательство в соответствии с принципами онкологического радикализма.

У всех пациентов исследуемых групп после осуществления операционного доступа и интраоперационной ревизии брюшной полости выполнялось ее орошение одним литром 0,9% водного раствора NaCl. После экспозиции раствора в течение 5 минут перитонеальный смыв аспирировали, далее подвергали анализу с применением методики проточной цитофлуометрии с иммунофенотипированием. У больных основной группы после завершения хирургического вмешательства проводили ВБХТ закрытым способом. С этой целью в ушитую брюшную полость через дренажные трубки вводился диализат Митомицина С из расчета 20 мг/м² поверхности тела, подогретый до 42°C с последующей экспозицией на 2 часа. После эвакуации диализата Митомицина С из брюшной полости осуществлялось ее орошение 1 литром 0,9% раствора NaCl. Промывная жидкость направлялась для второго иммунологического исследования. В контрольной группе ВБХТ после хирургического вмешательства не проводилась, а второй перитонеальный смыв для иммунологического исследования получали тем же способом, что в основной группе. Критериями включения в данное исследование являлись рак ободочной кишки cT4N0-2M0-1b на основании данных предоперационного обследования, гистологически верифицированная аденокарцинома, подписанное информированное согласие, возраст старше 18 лет, физический статус по шкале ECOG<2, степень анестезиологического риска по шкале ASA≤3. Критериями невключения были беременность или период лактации, наличие синхронных или метасинхронных злокачественных опухолей, перитонеальный карциноматоз, нерезектабельные отдаленные метастазы, неoadьювантное лечение в анамнезе (химиотерапевтическое, гормональное, биологическое). Критерием исключения являлся перитонеальный карциноматоз, диагностированный интраоперационно.

Статистически значимых различий между группами по полу, возрасту, росту, весу, индексу массы тела выявлено не было. Медиана возраста была 64,0 (57–71,8) и 68,5 (60–79,2) лет в основной и контрольных группах, соответственно (p=0,08). По размеру, локализации и дифференцировке опухоли группы были

однородны. Следует отметить, что в основной группе отмечалось большее количество случаев низкодифференцированной и слизистой дифференцировки первичной опухоли по сравнению с контрольной: 34% и 17%, соответственно. Согласно данным литературы, этот фактор определен как независимый предиктор развития перитонеальной диссеминации у больных КРР [10, 54, 96]. Таким образом, больные основной группы в отношении риска развития ПК и показателей выживаемости ввиду особенностей биологии опухолей имели худшие прогностические показатели по сравнению с пациентами контрольной группы.

Первичная опухоль локализовалась в большинстве случаев в левой половине ободочной кишки, как в основной (72%), так и в контрольной (65%) группах. При сопоставлении больных исследуемых групп по глубине прорастания опухоли кишечной стенки и соседних органов, количеству пораженных лимфатических узлов, наличию венозной, лимфоваскулярной, периневральной инвазии, частоте и структуре сопутствующих заболеваний различия не достигли статистической значимости. Патоморфологический анализ операционных препаратов показал, что в основной и контрольной группах в 100% случаев имелась злокачественная опухоль ободочной кишки. В зависимости от локализации и распространенности опухолевого процесса были выполнены как комбинированные, так и стандартные оперативные вмешательства. Исследуемые группы по объему произведенных операций были сопоставимы.

Было выявлено, что жизнеспособные СОК присутствуют у пациентов обеих групп как в первом, так и во втором перитонеальном смыве. На основании проведенного исследования было установлено, что наблюдается снижение количества жизнеспособных свободных опухолевых клеток во втором перитонеальном смыве у пациентов, как контрольной, так и основной группы ($p < 0,0001$). Однако для окончательного суждения об эффективности или неэффективности выполнения ВБХТ у больных раком ободочной кишки,

глубина инвазии опухолью кишечной стенки которых на этапе предоперационного обследования соответствовала индексу T4, необходимо определить функциональный потенциал опухолевых СОК в перитонеальных смывах у пациентов обеих групп.

В отношении уровней экспрессии маркеров CD133, CD44 и CD184 в динамике статистически значимых различий в обеих группах получено не было.

Выявлено, что в основной группе уровень экспрессии CD24 оставался неизменным как в первом, так и втором смыве, тогда как в контрольной группе наблюдалось увеличение его экспрессии с 5,6 ед.фл. до 6,5 ед.фл. ($p=0,03$). При этом уровень CD26 статистически значимо снижался в основной группе, составив 6,3 ед.фл. (95% ДИ: 5,7–7,1) и 5,2 ед.фл. (95% ДИ: 4,7–5,8) ($p=0,004$), в первом и втором смывах, соответственно. Схожая динамика прослеживалась и у пациентов контрольной группы: уровень флуоресценции CD26 составил 7,6 ед.фл. (95% ДИ: 6,7–8,7) и 6,4 ед.фл. (95% ДИ: 5,7–7,3) ($p=0,03$), в первом и втором смывах, соответственно. При сравнении уровней экспрессии маркеров СОК во втором смыве было установлено, что независимо от инициального значения уровень экспрессии CD133 в основной группе после проведения ВБХТ был статистически значимо ниже в среднем в 0,72 раза по сравнению с контрольной ($p=0,007$). По данным литературы CD133 широко используется как маркер индентификации опухолевых клеток при КРР [136, 175]. Показано, что клетки, экспрессирующие CD133, обладают большей способностью к инициации опухоли, пролиферации, инвазии и способностью к самообновлению по сравнению с клетками, неэкспрессирующими его [33, 44, 46, 71]. Таким образом, принимая во внимание полученное статистически значимое снижение экспрессии маркера CD133 во втором перитонеальном смыве у больных основной группы по сравнению с контрольной, можно сделать вывод о подавлении активности СОК под воздействием ВБХТ.

При сравнении уровней экспрессии маркеров СОК во втором смыве было установлено, что независимо от инициального значения уровень экспрессии

CD26 в основной группе после проведения ВБХТ был статистически значимо ниже в 0,81 раза по сравнению с контрольной ($p=0,04$). По данным ряда авторов экспрессия CD26 способствует миграции, инвазии и метастазированию опухолевых клеток путем связывания с компонентами внеклеточного матрикса, такими как фибронектин и коллаген, и регулированию экспрессии маркеров ЭМП [59, 65, 114, 137]. Полученное в данном исследовании падение экспрессии маркера CD26 после проведения ВБХТ свидетельствует о снижении способности интраперитонеальных СОК к миграции, инвазии и активации ЭМП по сравнению с контрольной группой. При сравнении уровней экспрессии маркеров СОК во втором смыве было установлено, что независимо от инициального значения уровень экспрессии CD24 в основной группе после проведения ВБХТ был статистически значимо ниже в среднем в 0,78 раза у больных основной группы по сравнению с контрольной ($p=0,02$). CD24, связываясь с различными лигандами, обеспечивает адгезию, пролиферацию и миграцию опухолевых клеток и является регулятором взаимодействий между клетками и межклеточным матриксом [73]. Снижение уровня флуоресценции экспрессии маркера CD24 во втором перитонеальном смыве после проведения ВБХТ демонстрирует уменьшение опухолевой и пролиферативной способности интраперитонеальных СОК. Полученные данные согласуются с результатами пилотного исследования, целью которого было определить влияние ВБХТ митомицином С и гипертермии на уровень экспрессии маркеров интраперитонеальных опухолевых клеток у больных раком ободочной кишки Т4 [6].

Принимая во внимание тот факт, что в настоящее исследование были включены пациенты с раком ободочной кишки, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которых на этапе предоперационного обследования соответствовала индексу сТ4, дополнительно был осуществлен анализ экспрессии маркеров СОК во втором перитонеальном смыве в зависимости от критерия Т по данным патоморфологического исследования операционного препарата. Было

установлено, что уровни экспрессии маркеров CD133, CD184, CD24, CD26, CD184 во втором перитонеальном смыве у больных с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT3 статистически значимо не различались между группами. При оценке уровней экспрессии маркеров СОК во втором перитонеальном смыве у больных с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT4 было выявлено статистически значимое снижение уровней экспрессии маркеров CD133, CD44 в 0,6 раз после проведения ВБХТ ($p=0,003$, $p=0,05$, соответственно). В отношении маркеров CD24, CD26 была отмечена тенденция к снижению уровней их экспрессии после проведения ВБХТ в 0,78 и 0,8 раз, соответственно ($p=0,06$, $p=0,09$, соответственно). Полученные данные свидетельствуют о достоверном уменьшении туморогенной и пролиферативной способности интраперитонеальных СОК после проведения ВБХТ у больных раком ободочной кишки с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки pT4.

Проведенный в настоящем исследовании корреляционный анализ не выявил статистически значимой связи между клинико-морфологическими характеристиками заболевания и экспрессией маркеров СОК: CD133, CD184, CD24, CD26, CD44. Оценивая результаты выполненного корреляционного анализа, необходимо отметить, что отсутствие статистически значимой связи с другими клинико-морфологическими признаками не свидетельствует о полном отсутствии зависимости между этими показателями и может быть обусловлено небольшим объемом выборки. При этом важно подчеркнуть, что данное научное направление является пилотным по своей сути, прямое сравнение результатов подобных исследований представляется затруднительным, ввиду использования различных методик детекции СОК и определения уровня их экспрессии.

В научной литературе имеются противоречивые данные в отношении наличия взаимосвязи между экспрессией маркера CD133 и клинико-морфологическими показателями. Так, Wang K. и соавт. не установили наличие связи между экспрессией CD133 и глубиной инвазии опухоли (ОШ=1,44, 95% ДИ: 0,77–2,68, $p=0,252$), дифференцировкой опухоли (ОШ=0,63, 95% ДИ: 0,28–

1,46, $p=0,286$), наличием метастатически пораженных лимфоузлов (ОШ=1,16, 95% ДИ: 0,87–1,54, $p=0,315$), лимоваскулярной инвазией (ОШ=1,08, 95% ДИ: 0,81–1,43, $p=0,594$). Статистически значимая корреляция была получена лишь в отношении общей выживаемости (ОР=2,14, 95% ДИ: 1,45–3,17, $p=0,0001$) [174]. В то время, как Chen S. и соавт., выполнив метаанализ, выявили, что экспрессия маркера CD133 коррелировала с глубиной инвазии кишечной стенки T3, T4 (ОР=1,12, 95% ДИ: 1,01–1,23, $p=0,03$), метастатическим поражением лимфатических узлов (ОР=1,31, 95% ДИ: 1,06–1,63, $p=0,01$), сосудистой инвазией (ОР=1,24, 95% ДИ: 1,08–1,41, $p<0,01$) [26]. Авторы в заключении подчеркивают, что полученные результаты следует интерпретировать с осторожностью по причине отсутствия включения в анализ рандомизированных клинических исследований, небольшому количеству и различий исследуемых пациентов по критериям системы TNM и гистологическим характеристикам.

Метаанализ, включивший 48 исследований, продемонстрировал взаимосвязь между экспрессией CD44 и клиничко-морфологическими характеристиками, такими как метастатически пораженные лимфатические узлы (ОШ=1,56, 95% ДИ: 1,01–2,41, $p=0,044$), наличие отдаленных метастазов (ОШ=2,90, 95% ДИ: 1,08–7,83, $p=0,035$), степень дифференцировки опухоли (ОШ=1,44, 95% ДИ: 1,00–2,08, $p=0,05$), размер опухоли (ОШ=1,71, 95% ДИ: 0,99–2,96, $p=0,05$) [164]. Согласно метаанализу Lee J. и соавт, экспрессия CD24 статистически значимо коррелировала с наличием метастазов в лимфатических узлах (ОШ=2,41, 95% ДИ: 1,013–5,720, $p=0,047$), распространенностью первичной опухоли (ОШ=1,59, 95% ДИ: 1,244–2,032, $p<0,001$) сокращением общей выживаемости (ОР=2,13, 95% ДИ: 1,656–2,730, $p<0,001$) [93]. Не исключено, что при дальнейшем наборе материала будут получены статистически значимые результаты и продемонстрировано наличие взаимосвязи между клиничко-морфологическими характеристиками и экспрессией маркеров СОК.

В послеоперационном периоде осложнения развились у 15/50 (30%) пациентов основной и у 10/40 (25%) контрольной группы ($p = 0,4$). Ни одного случая несостоятельности кишечного анастомоза, интра- и послеоперационной летальности выявлено не было. Как в основной, так и в контрольной группе, в послеоперационном периоде чаще других осложнений развивался парез ЖКТ – 3/50 (6%) и 6/40 (15%) наблюдений, соответственно, однако различия были статистически незначимыми ($p=0,1$), что может свидетельствовать об отсутствии негативного воздействия ВБХТ на моторно-эвакуаторную функцию ЖКТ. Гематологическая токсичность II–III степени по шкале токсичности СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) была отмечена в 3/50 (6%) наблюдениях в основной группе и не потребовала назначения стимулирующих гемопоэз препаратов. Полученные данные коррелируют с мировыми, где частота этого показателя не превышает 10% [21, 42].

При унивариантном анализе было установлено, что наличие отдаленных метастазов (ОШ=5,6, 95% ДИ: 1,03–42,74, $p=0,05$), длительность операции (ОШ=1,77, 95% ДИ: 1,24–2,63, $p=0,003$), открытая операция (ОШ=4,29, 95% ДИ: 1,59–13,03, $p=0,006$), резекция соседних органов (ОШ=4,09, 95% ДИ: 1,59–11,0, $p=0,004$), объем кровопотери (на каждые 100 мл) (ОШ=3,3, 95% ДИ: 1,57–8,46, $p=0,006$), наличие заболеваний эндокринной системы (ОШ=2,72, 95% ДИ: 0,9–8,18, $p=0,07$), наличие заболеваний органов дыхания (ОШ=5,64, 95% ДИ: 1,03–42,74, $p=0,05$) увеличивали риск развития осложнений. При этом проведение ВБХТ не оказывало влияния на развитие осложнений ($p=0,8$). Так, было выявлено, что независимым фактором, влияющим на частоту развития осложнений оказалась лишь длительность операции (ОШ=1,74, 95% ДИ: 1,07–3,08, $p=0,04$). Данный показатель косвенно может свидетельствовать о большем, по сравнению со стандартным, объеме оперативного вмешательства, что, в свою очередь, может реализоваться в большую частоту послеоперационных осложнений. При этом факт проведения ВБХТ также не увеличивал вероятность развития осложнений ($p=0,8$).

Анализ факторов риска развития осложнений в зависимости от проведения ВБХТ с учетом эффекта взаимодействия между факторами и проведением ВБХТ в основной группе позволил установить, что такие факторы как: формирование кишечной стомы, резекция соседних органов, тип операции, наличие заболеваний эндокринной системы, степень анестезиологического риска по ASA, физический статус пациента по шкале ECOG, критерий T, оценивающий глубину инвазии опухолью кишечной стенки, не оказывали влияние на развитие осложнений вне зависимости от проведения ВБХТ. Было выявлено, что мужской пол повышал шанс развития осложнений при проведении ВБХТ (ОШ=5,28, 95% ДИ: 3,45–8,08, $p=0,0001$). Наличие заболеваний сердечно-сосудистой системы и органов дыхания также увеличивало вероятность развития осложнений при проведении ВБХТ: ОШ=2,25, 95% ДИ: 1,39–3,65, $p=0,001$ и ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$, соответственно. Установлено, что наличие отдаленных метастазов и перифокального воспаления повышали шанс развития осложнений при проведении ВБХТ (ОШ=3,00, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$, ОШ=3,04, 95% ДИ: 2,14–4,31, $p=0,0001$). Выявлено, что локализация опухоли в левой половине ободочной кишки увеличивала вероятность развития осложнений при проведении ВБХТ в 1,53 раза (ОШ=1,53, 95% ДИ: 1,15–2,04, $p=0,003$).

Анализ показателей двухлетней общей выживаемости пациентов не выявил статистически значимых различий между группами – 89,2% и 87,0% в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,99$). Анализ показателей двухлетней безрецидивной выживаемости пациентов по методу Kaplan–Meier не выявил статистически значимых различий между группами – 81,6% и 78,8% в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,99$). Принимая во внимание наличие пациентов с отдаленными метастазами в изучаемых группах, дополнительно была осуществлена оценка безрецидивной выживаемости для больных без отдаленных метастазов. Анализ показателей двухлетней безрецидивной выживаемости для этой категории пациентов, выполненный по методу Kaplan–Meier, также не выявил статистически значимых различий между

группами – 89,2% и 80,2% в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,6$). Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, необходимо отметить тенденцию к улучшению показателей безрецидивной выживаемости при проведении ВБХТ у больных раком ободочной кишки сТ4.

Суммарно у 10/90 (11,1%) больных за период наблюдения возникло прогрессирование заболевания. Рецидив заболевания отмечен у 5/50 (10%) пациентов основной и у 5/40 (12,5%) – контрольной группы. Статистически значимых различий выявлено не было ($p=0,7$). Метастазы в печень возникли у 2 пациентов в каждой из анализируемых групп, в легкие – по одному наблюдению в каждой из групп. Рецидив заболевания сразу в печени и легких был диагностирован у 1 пациента основной группы. Прогрессирование в виде метастаза в яичник отмечено в 1 случае в основной группе, в виде метастатического поражения парааортальных лимфоузлов – у 1 пациента контрольной группы. Перитонеальный карциноматоз развился у одного больного контрольной группы. Анализируя данное клиническое наблюдение, следует отметить, что у пациентки помимо морфологически подтвержденного полностенного прорастания опухолью кишечной стенки имелись и другие, описанные в литературе факторы риска развития ПК: наличие слизистой дифференцировки опухоли и метастатического поражения регионарных ЛУ [10, 54, 95, 138]. Иммунологическое исследование перитонеальных смывов продемонстрировало отсутствие динамики изменения уровня экспрессии маркеров СОК во втором перитонеальном смыве, что свидетельствует о сохранении способности СОК к миграции и инвазии ввиду активации адаптивной пластичности опухолевых клеток и эпителиально-мезенхиального перехода и реализации этого обстоятельства в виде развития ПК.

Проведенное исследование позволило восполнить ранее существующие пробелы в понимании механизма действия ВБХТ на клеточном уровне. Было продемонстрировано снижение функциональной активности интраперитонеальных свободных опухолевых клеток под воздействием ВБХТ

Митомицином С у больных, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которых на этапе обследования была определена как Т4, тем самым потенциально минимизируя риск развития ПК у этой категории пациентов. Было установлено, что проведение ВБХТ Митомицином С не увеличивает частоту послеоперационных осложнений и не приводит к удлинению сроков госпитализации больных, что свидетельствует о безопасности данной процедуры у больных раком ободочной кишки. В отношении частоты рецидивов и показателей двухлетней безрецидивной выживаемости статистически значимых различий между группами получено не было. Однако, полученные данные не позволяют достоверно утверждать об отсутствии эффективности применения ВБХТ как предиктивной меры развития ПК ввиду небольшого периода наблюдения. Дальнейшее наблюдение за больными с анализом их выживаемости будет иметь большое значение как для теоретической, так и для практической онкологии, и позволит более определенно высказаться о значении ВБХТ в лечении больных раком ободочной кишки.

ВЫВОДЫ

1. Проведение внутрибрюшной химиотерапии у больных раком ободочной кишки с глубиной инвазии опухолью кишечной стенки сT4 позволяет уменьшить пролиферативный потенциал и туморогенность интраперитонеальных свободных опухолевых клеток, о чем свидетельствует снижение уровня экспрессии маркеров во втором перитонеальном смыве в основной группе по сравнению с аналогичным показателем в контрольной: CD133 – в 0,72 ($p=0,007$), CD26 – в 0,81 ($p=0,04$), а CD24 – в 0,78 раза ($p=0,02$).

2. Осуществленный корреляционный анализ не установил наличия статистически значимой связи между иммунологическими характеристиками свободных опухолевых клеток и клинико-морфологическими параметрами заболевания.

3. Проведение ВБХТ не приводит к увеличению частоты развития послеоперационных осложнений, которая составила 30% в основной и 25% в контрольной группе ($p=0,4$), и не увеличивает продолжительность послеоперационного койко-дня, медиана которого составила 11,5 и 12,5 дней в основной и контрольной группе, соответственно ($p=0,7$). Гематологическая токсичность, связанная с проведением ВБХТ, была зарегистрирована в 6% случаев.

4. Логистический регрессионный анализ факторов риска развития осложнений со взаимодействием между потенциальными факторами и проведением ВБХТ в основной группе позволил установить, что мужской пол (ОШ=5,28, 95% ДИ: 3,45–8,08, $p=0,0001$), наличие заболеваний сердечно-сосудистой системы (ОШ=2,25, 95% ДИ: 1,39–3,65, $p=0,001$), заболеваний органов дыхания (ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$), отдаленных метастазов (ОШ=3,0, 95% ДИ: 1,19–7,56, $p=0,02$), перифокального воспаления (ОШ=3,04, 95% ДИ: 2,14–4,31, $p=0,0001$), локализация опухоли в левой половине ободочной кишки (ОШ=1,53, 95% ДИ: 1,15–2,04, $p=0,003$) увеличивают вероятность развития осложнений при проведении ВБХТ.

5. Рецидив заболевания развился у 5/50 (10%) пациентов основной и у 5/40 (12,5%) контрольной группы, статистически значимых различий выявлено не было ($p=0,7$). Показатели двухлетней безрецидивной выживаемости в группе ВБХТ и контрольной группе так же не различались, составив 81,6% и 78,8%, соответственно ($p=0,99$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Проведение ВБХТ у больных раком ободочной кишки, с инвазией опухолью серозной оболочки или распространением на соседние органы или структуры после выполнения резекции кишки патогенетически обоснованно, поскольку позволяет снизить туморогенность и пролиферативный потенциал СОК.
2. При отсутствии возможности проведения ВБХТ у больных, глубина инвазии опухолью кишечной стенки которых на этапе обследования была определена как сТ4, в качестве альтернативного метода противоопухолевого воздействия на интраперитонеальные СОК можно рекомендовать проведение перитонеального лаважа физиологическим раствором, поскольку в настоящем исследовании было зафиксировано статистически значимое снижение уровня экспрессии маркера CD26 у пациентов контрольной группы.
3. Проведение ВБХТ у больных раком ободочной кишки препаратом Митомицин С в дозировке 20 мг/м² площади поверхности тела целесообразно, так как это не увеличивает частоту развития осложнений, частота зафиксированной гематологической токсичности в настоящем исследовании коррелирует с аналогичным показателем в иных исследованиях.
4. С целью профилактики развития осложнений в послеоперационном периоде необходимо проводить тщательный мониторинг состояния больных после проведения внутрибрюшной химиотерапии при наличии факторов, повышающих риск развития осложнений: мужской пол, наличие заболеваний сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, отдаленных метастазов, перифокального воспаления, а также при локализации опухоли в левой половине ободочной кишки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев, М. В. Хирургическое лечение рака прямой кишки с применением химиотерапии с гипертермией: диссертация кандидата медицинских наук: 14.01.17 / Алексеев Михаил Владимирович; [Место защиты: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии» министерства здравоохранения Российской Федерации]. – Москва, 2013. – 117 с.
2. Каприн, А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова. — М.: «МНИОИ им. ПА Герцена» - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. — 2021. — 239 с.
3. Сушков, О. И. Факторы прогноза выживаемости больных, оперированных по поводу перитонеального карциноматоза при раке толстой кишки / О.И. Сушков, Ю.А. Шельгин, С.И. Ачкасов [и др.] // Хирургия. Журнал имени И.Н. Пирогова. – 2019. – №3. – С. 16–23.
4. Тотиков, М. З. Комбинированное лечение больных раком ободочной кишки с применением интраоперационной внутрибрюшной и ранней системной химиотерапии: диссертация кандидата медицинских наук: 14.01.27, 14.00.14 / Тотиков Мурат Заурович [Место защиты: Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию ГУ «Государственный научный центр колопроктологии»]. – Москва, 2005. – 123 с.
5. Шельгин, Ю.А. Иммунофенотипирование свободных опухолевых клеток для ранней диагностики перитонеального карциноматоза при колоректальном раке / Ю.А. Шельгин, И.В. Образцов, М.А. Сухина [и др.] // Колопроктология. – 2019. – № 1(67). – С. 39-45.
6. Шельгин, Ю.А. Эффективность внутрибрюшной химиотерапии при раке ободочной кишки Т4 / Ю.А Шельгин, О.И. Сушков, М.А. Сухина [и др.] // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова – 2020. – № 10. – С. 36-43.

7. Ahmed, K. Hyperthermia: An effective strategy to induce apoptosis in cancer cells / K. Ahmed, Y. Tabuchi, T. Kondo // *Apoptosis*. – 2015. – № 11 (20). – P. 1411–1419.
8. Arjona-Sánchez, A. HIPECT4: Multicentre, randomized clinical trial to evaluate safety and efficacy of Hyperthermic intra-peritoneal chemotherapy (HIPEC) with Mitomycin C used during surgery for treatment of locally advanced colorectal carcinoma/ A. Arjona-Sánchez, P. Barrios, E. Boldo-Roda [et al.] // *BMC Cancer*. – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 1–8.
9. Arndt, K. CD133 is a modifier of hematopoietic progenitor frequencies but is dispensable for the maintenance of mouse hematopoietic stem cells /K. Arndt, T. Grinenko, N.Mende // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2013. – Vol. 110, № 14. – P. 5582–5587.
10. Augestad, K. M. Metastatic spread pattern after curative colorectal cancer surgery. A retrospective, longitudinal analysis / K. M. Augestad, P. M. Bakaki, J. Rose [et al.] // *Cancer Epidemiology*. – 2015. – Vol. 39, № 5. – P. 734–744.
11. Ayude, D. Clinical interest of the combined use of serum CD26 and alpha-L-fucosidase in the early diagnosis of colorectal cancer / D. Ayudea, M. de la Cadena, O. Corderob [et al.] // *Disease Markers*. – 2003. – Vol. 19, № 6. – P. 267–272.
12. Bachur, N. R. NADPH cytochrome P-450 reductase activation of quinone anticancer agents to free radicals / N. R. Bachur, S. L. Gordon, M. V. Gee [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1979. – Vol. 76, № 2. – P. 954–957.
13. Baratti, D. Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) at the Time of Primary Curative Surgery in Patients with Colorectal Cancer at High Risk for Metachronous Peritoneal Metastases / D. Baratti, S. Kusamura, D. Iusco [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2017. – Vol. 24, № 1. – P. 167–175.
14. Bauvois, B. A collagen-binding glycoprotein on the surface of mouse fibroblasts is identified as dipeptidyl peptidase IV / B. A. Bauvois// *Biochemical Journal*. – 1988. – Vol. 252, № 3. – P. 723–731.
15. BioRad Fluorescence Compensation // *Flow Cytometry Basics Guide*.

16. Bird, N. C. Biology of colorectal liver metastases: A review / N.C. Bird, D. Mangnall, A. W. Majeed // *Journal of Surgical Oncology*. – 2006. – Vol. 94, № 1 – P. 68–80.
17. Bosanquet, D. C. Systematic review and meta-analysis of intraoperative peritoneal lavage for colorectal cancer staging / D. C. Bosanquet, D. A. Harris, M. D. Evans [et al.] // *The British journal of surgery*. – 2013. – Vol. 100, № 7. – P. 853–862.
18. Bosch, B. Perioperative detection of disseminated tumour cells is an independent prognostic factor in patients with colorectal cancer / B. Bosch, U. Guller, A. Schnider [et al.] // *British Journal of Surgery*. – 2003. – Vol. 90, № 7. – P. 882–888.
19. Bree, E. de Peritoneal Carcinomatosis from Colorectal or Appendiceal Origin: Correlation of Preoperative CT with Intraoperative Findings and Evaluation of Interobserver Agreement / E. de Bree 1, W. Koops, R. Kröger [et al.] // *Journal of Surgical Oncology*. – 2004. – Vol. 86, № 2. – P. 64–73.
20. Burnett, A. Peritoneal carcinomatosis index predicts survival in colorectal patients undergoing HIPEC using oxaliplatin: A retrospective single-arm cohort study / A. Burnett, M.-E. A. Lecompte, N. Trabulsi [et al.] // *World Journal of Surgical Oncology*. – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 1–10.
21. Canda, A. E. Complications and toxicities after cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy / A.E. Canda, S. Sokmen, C. Terzi [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2013. – Vol. 20, № 4. – P. 1082–1087.
22. Capone, A. Postoperative infections in cytoreductive surgery with hyperthermic intraperitoneal intraoperative chemotherapy for peritoneal carcinomatosis / A. Capone, M. Valle, F. Proietti [et al.] // *Journal of Surgical Oncology*. – 2007. – Vol. 96, № 6. – P. 507–513.
23. Chang, M. C. PET or PET/CT for detection of peritoneal carcinomatosis: A meta-analysis / M.-C. Chang, J.-H. Chen, J.-A. Liang [et al.] // *Clinical Nuclear Medicine*. – 2013. – Vol. 38, № 8. – P. 623–629.

24. Chanmee, T. Key roles of hyaluronan and its CD44 receptor in the stemness and survival of cancer stem cells / T. Chanmee, P. Ontong, K. Kimata [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2015. – Vol. 5, № 180. – P. 1–11.
25. Chen, K. L. Highly enriched CD133 +CD44 + stem-like cells with CD133 +CD44 high metastatic subset in HCT116 colon cancer cells / K.-L. Chen, F. Pan, H. Jiang [et al.] // *Clinical and Experimental Metastasis*. - 2011. – Vol. 28, № 8. – P. 751–763.
26. Chen, S. CD133 Expression and the Prognosis of Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis / S. Chen, X. Song, Z. Chen [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8, № 2. – P. 1–9.
27. Cho, S. H. CD44 enhances the epithelial-mesenchymal transition in association with colon cancer invasion / S.H. Cho, Y.S. Park, H. J. Kim [et al.] // *International Journal of Oncology*. – 2012. – Vol. 41, № 1. – P. 211–218.
28. Choi, D. Cancer stem cell markers CD133 and CD24 correlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma / D. Choi, H. W. Lee, K. Y. Hur [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2009. - Vol. 15, № 18. – P. 2258–2264.
29. Chu, P. Characterization of a subpopulation of colon cancer cells with stem cell-like properties / P. Chu, D. J. Clanton, T. S. Snipas [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2009. – Vol. 124, № 6. – P. 1312–1321.
30. Cichy, J. The liberation of CD44 / J. Cichy, E. Puré // *Journal of Cell Biology*. – 2003. – Vol. 161, № 5. – P. 839–843.
31. Coakley, F. V. Peritoneal metastases: Detection with spiral CT in patients with ovarian cancer / F. V. Coakley, P. H. Choi, C. A. Gougoutas [et al.] // *Radiology*. – 2002. – Vol. 223, № 2. – P. 495–499.
32. Corbo, C. Protein cross-talk in CD133+ colon cancer cells indicates activation of the Wnt pathway and upregulation of SRp20 that is potentially involved in tumorigenicity / C. Corbo, S. Orru, M. Gemei [et al.] // *Proteomics*. – 2012. – Vol. 12, № 12. – P. 2045–2059.

33. Cui, L. Prospectively isolated cancer-associated CD10+fibroblasts have stronger interactions with CD133+colon cancer cells than with CD133-cancer cells / L. Cui, K. Ohuchida, K. Mizumoto [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, № 8. – P. 1-11.
34. Dalerba, P. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells / P. Dalerba, S. J. Dylla, I.K. Park [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2007. – Vol. 104, № 24. – P. 10158–10163.
35. Deng, Y.-H. 5-Fluorouracil upregulates the activity of Wnt signaling pathway in CD133-positive colon cancer stem-like cells / Y.-H. Deng, X.-X. Pu, M.-J. Huang [et al.] // Chinese journal of cancer. – 2010. – Vol. 29, № 9. – P. 810–815.
36. Dowdy, S. C. Assessment of outcomes and morbidity following diaphragmatic peritonectomy for women with ovarian carcinoma / Sean C. Dowdy, R. T. Loewen, G. Aletti [et al.] // Gynecol Oncol. – 2008. – Vol. 2, № 109. – P. 303-307.
37. Du, L. CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells / L. Du, H. Wang, L. He [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2008. – Vol. 14, № 21. – P. 6751–6760.
38. Eden, W. J. van Safety of intraperitoneal Mitomycin C versus intraperitoneal oxaliplatin in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer undergoing cytoreductive surgery and HIPEC / W. J. van Eden, N. F. M. Kok, K. Woensdregt [et al.] // European Journal of Surgical Oncology. – 2018. – Vol. 44, № 2. – P. 220–227.
39. Elferink, M. A. G. Metachronous metastases from colorectal cancer: a population-based study in North-East Netherlands / M. A. G. Elferink, K. P. de Jong, J. M. Klaase [et al.] // International Journal of Colorectal Disease. – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 205–212.
40. Elias, D. Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin / D. Elias, J. H. Lefevre, J. Chevalier [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2009. – Vol. 27, № 5. – P. 681–685.
41. Elias, D. Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: Retrospective analysis of 523 patients

- from a multicentric French study / D. Elias, F. Gilly, F. Boutitie [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28, № 1. – P. 63–68.
42. Elias, D. Results of systematic second-look surgery plus hipec in asymptomatic patients presenting a high risk of developing colorectal peritoneal carcinomatosis / D. Elias, C. Honore, F. Dumont [et al.] // *Annals of Surgery*. – 2011. – Vol. 254, № 2. – P. 289–293.
43. Elsaba, T. M. A. The stem cell marker CD133 associates with enhanced colony formation and cell motility in colorectal cancer / T. M. A. Elsaba, L. Martinez-Pomares, A.R. Robins [et al.] // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5, № 5. – P. 1-11.
44. Fang, D. D. Expansion of CD133+ colon cancer cultures retaining stem cell properties to enable cancer stem cell target discovery / D. D. Fang, Y. J. Kim, C. N. Lee [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2010. – Vol. 102, № 8. – P. 1265–1275.
45. Fang, Y. miRNA expression profile of colon cancer stem cells compared to non-stem cells using the SW1116 cell line / Y. Fang, J. Xiang, Z. Chen [et al.] // *Oncology Reports*. – 2012. – Vol. 28, № 6. – P. 2115–2124.
46. Feng, H. L. Expression of CD133 correlates with differentiation of human colon cancer cells / H.-L. Feng, Y.-Q. Liu, L.-J. Yang [et al.] // *Cancer Biology and Therapy*. – 2010. – Vol. 9, № 3. – P. 216–223.
47. Flessner, M. F. The transport barrier in intraperitoneal therapy / M. F. Flessner // *American Journal of Physiology - Renal Physiology*. – 2005. – Vol. 288, № 3. – P. 433-442.
48. Franiel, T. Multi-detector CT in peritoneal carcinomatosis: Diagnostic role of thin slices and multiplanar reconstructions / T. Franiel, G. Diederichs, F. Engelken [et al.] // *Abdominal Imaging*. – 2009. – Vol. 34, № 1. – P. 49–54.
49. Franko, J. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion versus systemic chemotherapy alone for colorectal peritoneal carcinomatosis / J. Franko, Z. Ibrahim, N. J. Gusani [et al.] // *Cancer*. – 2010. – Vol. 116, № 16. – P. 3756–3762.

50. Franko, J. Treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis with systemic chemotherapy: A pooled analysis of North Central Cancer Treatment Group phase III trials N9741 and N9841 / J. Franko, Q. Shi, C. D. Goldman [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30, № 3. – P. 263–267.
51. Fujii, S. Detection of peritoneal dissemination in gynecological malignancy: Evaluation by diffusion-weighted MR imaging / S. Fujii, E. Matsusue, Y. Kanasaki [et al.] // *European Radiology*. – 2008. – Vol. 18, № 1. – P. 18–23.
52. Fujii, S. Evaluation of intraperitoneal lavage cytology before colorectal cancer resection / S. Fujii, H. Shimada, S. Yamagishi [et al.] // *International Journal of Colorectal Disease*. – 2009. – Vol. 24, № 8. – P. 907–914.
53. Gelli, M. Strategies to prevent peritoneal carcinomatosis arising from colorectal cancer / M. Gelli, J. F/L/ Huguenin, C. Cerebelli [et al.] // *Future Oncology*. – 2017. – Vol. 13, № 10. – P. 907–918.
54. Gestel, Y. R. B. M. Van Metachronous peritoneal carcinomatosis after curative treatment of colorectal cancer / Y. R. B. M. van Gestel, I. Thomassen, V. E. P. P. Lemmens [et al.] // *European Journal of Surgical Oncology*. – 2014. – Vol. 40, № 8. – P. 963–969.
55. Gilly, F. N. Regional chemotherapy (with mitomycin C) and intra-operative hyperthermia for digestive cancers with peritoneal carcinomatosis / F. N. Gilly, P. Y. Carry, A. C. Sayag [et al.] // *Hepato-gastroenterology*. – 1994. – Vol. 41, № 2. – P. 124–129.
56. Glehen, O. Toward curative treatment of peritoneal carcinomatosis from nonovarian origin by cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy: A multi-institutional study of 1290 patients / Olivier Glehen, F. N. Gilly, F. Boutitie [et al.] // *Cancer*. – 2010. – Vol. 116, № 24. – P. 5608–5618.
57. Godar, S. Growth Inhibitory and Tumor- Suppressive Functions of p53 depend on its Repression of CD44 Expression / S. Godar, T. A. Ince, G. W. Bell [et al.] // *Cell*. – 2008. – Vol. 134, № 1. P. 62–73.

58. Goere, D. 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) / D. Goere, O. Glehen, F. Quenet [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2018. – Vol. 36, suppl 15. – P. 3531–3531.
59. Gonzalez-Gronow, M. Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26) is a cell-surface plasminogen receptor / M. Gonzalez-Gronow, S. Kaczowka, G. Gawdi [et al.] // *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. – 2008. – Vol.13. – P. 1610–1618.
60. Gozalan, U. Peritoneal cytology in colorectal cancer: incidence and prognostic value / U. Gozalan, A. C. Yasti, Y. N. Yuksek [et al.] // *American Journal of Surgery*. – 2007. – Vol. 193, № 6. – P. 672–675.
61. Grunt, T. W. Prominin-1 (CD133, AC133) and dipeptidyl-peptidase IV (CD26) are indicators of infinitive growth in colon cancer cells / T. W. Grunt, A. Hebar, S. Laffer [et al.] // *American journal of cancer research*. – 2015. -Vol. 5, № 2. – P. 560–74.
62. Gunthert, U. Are CD44 variant isoforms involved in human tumour progression? / U. Günthert, R. Stauder, B. Mayer [et al.] // *Cancer Surveys*. – 1995. – Vol. 24. – P. 19–42.
63. Haraguchi N. CD133+CD44+ population efficiently enriches colon cancer initiating cells / N. Haraguchi, M. Ohkuma, H. Sakashita [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2008. – Vol. 15, № 10. – P. 2927–2933.
64. Harmon, R. L. Prognostic indicators in peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer / R. L. Harmon, P. H. Sugarbaker // *International Seminars in Surgical Oncology*. – 2005. -Vol 2. – P. 1–11.
65. Havre, P. A. The role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in cancer / P. A. Havre, M. Abe, Y. Urasaki [et al.] // *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. – 2008. – Vol. 13. – P. 1634–1645.
66. Healy, J. C. Detection of peritoneal metastases / J. C. Healy // *Cancer Imaging*. – 2001. – Vol. 1, № 2. – P. 1–9.

67. Hermann, P. C. Distinct Populations of Cancer Stem Cells Determine Tumor Growth and Metastatic Activity in Human Pancreatic Cancer / P. C. Hermann, S. L. Huber, T. Herrler [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2007. – Vol. 1, № 3. – P. 313–323.
68. Hompes, D. The of Oxaliplatin or Mitomycin C in HIPEC treatment for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: A comparative study / D. Hompes, A. D’hoore, A. Wolthuis [et al.] // *Journal of Surgical Oncology*. – 2014. – Vol. 109, № 6. – P. 527–532.
69. Huang M. J., Chen W. Clinical Analysis of HIPEC for T4 Colorectal Cancer After Surgery NCT03221608 [Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03221608>.
70. Huh, J. W. Expression of standard CD44 in human colorectal carcinoma: Association with prognosis / J. W. Huh, H. R. Kim, Y. J. Kim [et al.] // *Pathology International*. – 2009. -Vol. 59, № 4. – P. 241–246.
71. Ieta, K. Biological and genetic characteristics of tumor-initiating cells in colon cancer / K. Ieta, F. Tanaka, N. Haraguchi [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2008. -Vol. 15, № 2. – P. 638–648.
72. Jacquet, P. Peritoneal-plasma barrier / Jacquet P., Sugarbaker P. H. // *Cancer treatment and research*. – 1996. – Vol. 82. – P. 53-63.
73. Jaggupilli, A. Significance of CD44 and CD24 as cancer stem cell markers: An enduring ambiguity / A. Jaggupilli., E. Elkord // *Clinical and Developmental Immunology*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-11.
74. Jeon, Y. K. Promoter hypermethylation and loss of CD133 gene expression in colorectal cancers / Y.-K. Jeon, S.-H. Kim, S.-H. Choi [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 16, № 25. – P. 3153–3160.
75. Jong, L. A. W. de Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis: a clinical pharmacological perspective on a surgical procedure / L. A. W. de Jong, F. M. K. Elekonawo, P. R. de Reuver [et al.] // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2019. – Vol. 85, № 1. – P. 47–58.

76. Kanwar, S. S. The Wnt/ β -catenin pathway regulates growth and maintenance of colonospheres / S. S Kanwar, Y. Yu, J. Nautiyal [et al.] // *Molecular Cancer*. – 2010. – Vol. 9. – P. 1–13.
77. Katoh, H. Prognostic significance of peritoneal tumour cells identified at surgery for colorectal cancer / H. Katoh, K. Yamashita, T. Sato [et al.] // *British Journal of Surgery*. – 2009. – Vol.96, № 7. – P. 769–777.
78. Kemper, K. Mutations in the Ras-Raf axis underlie the prognostic value of CD133 in colorectal cancer / K. Kemper, M. Versloot, K. Cameron [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2012. – Vol. 18, № 11. – P. 3132–3141.
79. Kim, J. Chemokine receptor CXCR4 expression in colorectal cancer patients increases the risk for recurrence and for poor survival / J. Kim, H. Takeuchi, S. T. Lam [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23, № 12. – P. 2744–2753.
80. Kim, J. Chemokine receptor CXCR4 expression in patients with melanoma and colorectal cancer liver metastases and the association with disease outcome / J. Kim, T. Mori, S. L. Chen [et al.] // *Annals of Surgery*. – 2006. – Vol 244, № 1. – P. 113–120.
81. Klaver, C. E. L. Adjuvant hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with locally advanced colon cancer (COLOPEC): a multicentre, open-label, randomised trial / C. E. L. Klaver, D. D Wisselink, C. J. A. Punt [et al.] // *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. – 2019. – Vol. 4, № 10. – P. 761–770.
82. Klaver, Y. L. B. Outcomes of colorectal cancer patients with peritoneal carcinomatosis treated with chemotherapy with and without targeted therapy / Y.L.B. Klaver, L.H.J. Simkens, V.E.P.P. Lemmens [et al.] // *European Journal of Surgical Oncology*. - 2012. – Vol. 38, № 7. – P. 617–623.
83. Krishnamurthy, S. Role of Imaging in Peritoneal Surface Malignancies / S. Krishnamurthy, R. Balasubramaniam // *Indian Journal of Surgical Oncology*. - 2016. – Vol. 7, № 4. – P. 441–452.

84. Kuçi, S. Identification of a novel class of human adherent CD34- stem cells that give rise to SCID-repopulating cells/ S. Kuci, J. T. Wessels, H.-J. Buhrin [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 101, № 3. – P. 869–876.
85. Kuhn, S. A complex of EpCAM, claudin-7, CD44 variant isoforms, and tetraspanins promotes colorectal cancer progression /S. Kuhn, M. Koch, T. Nubel [et al.] // *Molecular Cancer Research*. – 2007. – Vol 5, № 6. – P. 553–567.
86. Kuniyasu, H. Heparan sulfate enhances invasion by human colon carcinoma cell lines through expression of CD44 variant exon 3 / H. Kuniyasu, N. Oue, M. Tsutsumi [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2001. – Vol. 7, № 12. – P. 4067–4072.
87. la Haba-Rodríguez, J. de Soluble dipeptidyl peptidase IV (CD-26) in serum of patients with colorectal carcinoma / J de la Haba-Rodríguez, A. Macho, M. A. Calzado [et al.] // *Neoplasma*. – 2002. – Vol. 49, № 5. – P. 307–311.
88. Laghi, A. Diagnostic performance of computed tomography and magnetic resonance imaging for detecting peritoneal metastases: systematic review and meta-analysis / A. Laghi, D. Bellin, M. Rengo [et al.]// *Radiologia Medica*. – 2017. – Vol. 122, № 1. – P. 1-15.
89. Lakshman, M. CD44 promotes resistance to apoptosis in human colon cancer cells / M. Lakshman, V. Subramaniam, U. Rubenthiran [et al.] // *Experimental and Molecular Pathology*. – 2004. – Vol. 77, № 1. – P. 18–25.
90. Lam, C. S. C. Prognostic significance of CD26 in patients with colorectal cancer / C. S.-C. Lam, A. H.-K. Cheung, S. K.-M. Wong [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 5. – P. 1–10.
91. Langan, R. C. A pilot study assessing the potential role of non-CD133 colorectal cancer stem cells as biomarkers / R. C. Langan, J. E. Mullinax, S. Ray [et al.] // *Journal of Cancer*. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 231–240.
92. Lee, A. Isolation of neural stem cells from the postnatal cerebellum /A. Lee, J. D. Kessler, T.-A. Read [et al.] // *Nature neuroscience*. – 2005. – Vol. 8, № 6. – P. 723–729.

93. Lee, J.-H. CD24 overexpression in cancer development and progression: A meta-analysis / J.-H. Lee, S.-H. Kim, E.-S. Lee [et al.] // *Oncol Rep.* – 2009. – Vol. 22, № 5. – P. 1149–1156.
94. Leeuwen, B. L. van Swedish experience with peritonectomy and HIPEC. HIPEC in peritoneal carcinomatosis / B. L. van Leeuwen, W. Graf, L. Pahlman [et al.] // *Annals of Surgical Oncology.* – 2008. – Vol. 15, № 3. – P. 745–753.
95. Lemmens, V. E. Predictors and survival of synchronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: A population-based study / V. E. Lemmens, Y. L. Klaver, V. J. Verwaal [et al.] // *International Journal of Cancer.* – 2011. – Vol. 128, № 11. – P. 2717–2725.
96. Lemoine, L. Drugs, doses, and durations of intraperitoneal chemotherapy: standardising HIPEC and EPIC for colorectal, appendiceal, gastric, ovarian peritoneal surface malignancies and peritoneal mesothelioma / L. Lemoine, P. Sugarbaker, K. Van der Speeten // *International Journal of Hyperthermia.* – 2017. – Vol. 33, № 5. – P. 582–592.
97. Li, J. Overexpression of CXCR4 is significantly associated with cisplatin-based chemotherapy resistance and can be a prognostic factor in epithelial ovarian cancer / J. Li1, K. Jiang, X. Qiu [et al.] // *BMB Reports.* – 2014. – Vol. 47, № 1. – P. 33–38.
98. Li, T. Preventive intraperitoneal hyperthermic perfusion chemotherapy for patients with T4 stage colon adenocarcinoma / T. Li, J. Yu, Y. Chen [et al.] // *Techniques in Coloproctology.* – 2020. – Vol. 6, №25. – P. 683-691.
99. Li, X.-D. Clinical Significance of CD44 Variants Expression in Colorectal Cancer / X.-D. Li, M. Ji, J. Wu [et al.] // *Tumori Journal.* – 2013. – Vol .99, № 1. – P. 88–92.
100. Lin, L. Targeting colon cancer stem cells using a new curcumin analogue, GO-Y030 / L. Lin, Y. Liu, H Li [et al.] // *British Journal of Cancer.* – 2011. – Vol. 105, № 2. – P. 212–220.
101. Lippitz, B. E. Cytokine patterns in patients with cancer: A systematic review / B. E. Lippitz // *The Lancet Oncology.* – 2013. – Vol. 14, № 6. – P. 218–228.

102. Long, H. Autocrine CCL5 signaling promotes invasion and migration of CD133 + ovarian cancer stem-like cells via NF- κ B-mediated MMP-9 upregulation / H. Long, R. Xie, T. Xiang [et al.] // *Stem Cells*. – 2012. – Vol. 30, № 10. – P. 2309–2319.
103. Loster, K. The cysteine-rich region of dipeptidyl peptidase IV (CD 26) is the collagen binding site / K. Loster, K. Zelinger, D. Schuppan [et al.] // *Biochemical and biophysical research communication*. – 1995. – Vol. 217, № 1. – P. 341–348.
104. Low, R. N. MR imaging of the peritoneal spread of malignancy / R. N. Low // *Abdominal Imaging*. – 2007. – Vol. 32, № 3. – P. 267–283.
105. Ma, S. Biology and clinical implications of CD133(+) liver cancer stem cells. / S. Ma // *Experimental cell research*. – 2013. – Vol. 319, № 2. – P. 126–132.
106. Mani, S. A. The Epithelial-Mesenchymal Transition Generates Cells with Properties of Stem Cells / S. A. Mani, W. Guo, M.-J. Liao [et al.] // *Cell*. – 2008. – Vol. 133, № 4. – P. 704–715.
107. Marin, D. 64-Section multi-detector row CT in the preoperative diagnosis of peritoneal carcinomatosis: Correlation with histopathological findings / D. Marin, C. Catalano, M. Baski [et al.] // *Abdominal Imaging*. – 2010. – Vol. 35, № 6. – P. 694–700.
108. Melo, F. D. S. E. Targeting Wnt signaling in colon cancer stem cells / F. D. S. E. Melo, L. Vermeulen, D. Richel [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2011. – Vol. 17, № 4. – P. 647–653.
109. Mentlein, R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)-role in the inactivation of regulatory peptides / R. Mentlein // *Regulatory Peptides*. – 1999. – Vol. 85, № 1. – P. 9–24.
110. Miraglia, S. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: Isolation, characterization, and molecular cloning / S. Miraglia, W. Godfrey, A. H. Yin [et al.] // *Blood*. – 1997. – Vol. 90, № 12. – P. 5013–5021.
111. Nosrati, A. Cancer stem cells CD133 and CD24 in colorectal cancers in Northern Iran / A. Nosrati, F. Naghshvar, I. Maleki [et al.] // *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*. – 2016. – Vol. 9, № 2. – P. 132–139.

112. O'Brien, C. A. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice / C. A. O'Brien, A. Pollett, S. Gallinger [et al.] // *Nature*. – 2007. – Vol. 445, № 7123. – P. 106–110.
113. Oudheusden, T. R. van Systemic treatment of patients with metachronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin / T. R. van Oudheusden, L. G. Razenberg, Y. R. van Gestel [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 1–7.
114. Pang, R. A subpopulation of CD26 + cancer stem cells with metastatic capacity in human colorectal cancer / R. Pang, W. L. Law, A. C. Y. [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2010. – Vol. 6, № 6. – P. 603–615.
115. Pannu, H. K. Thin section dual-phase multidetector-row computed tomography detection of peritoneal metastases in gynecologic cancers / H. K. Pannu, K. M. Horton, E. K. Fishman // *Journal of Computer Assisted Tomography*. – 2003. – Vol. 27, № 3. – P. 333–340.
116. Park Y. S. shRNA against CD44 inhibits cell proliferation, invasion and migration, and promotes apoptosis of colon carcinoma cells / Y. S. Park, J. W. Huh, J. H. Lee [et al.] // *Oncology Reports*. – 2012. – Vol. 27, № 2. – P. 339–346.
117. Piaton E. Intraperitoneal free cancer cells in non-gynaecological adenocarcinomas: A reproducibility study / E. Piaton, L. Villeneuve, C. Maurice [et al.] // *Cytopathology*. – 2012. – Vol. 23, № 4. – P. 242–249.
118. Piazza G. A. Evidence for a role of dipeptidyl peptidase IV in fibronectin-mediated interactions of hepatocytes with extracellular matrix / G. A. Piazza, H. M. Callanan, J. Mowery [et al.] // *Biochemical Journal*. – 1989. – Vol. 262, № 1. – P. 327–334.
119. Pincus M. R., Lifshitz M. S., Jay L. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 2017.C. 33–59.
120. Portilla A. G. Second-look surgery after cytoreduction and intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: Analysis of prognostic features / A. G. Portilla, P. H. Sugarbaker, D. Chang // *World Journal of Surgery*. – 1999. – Vol. 23, № 1. – P. 23–29.

121. Ravn S. Overall risk and risk factors for metachronous peritoneal metastasis after colorectal cancer surgery: a nationwide cohort study / S. Ravn, U. Heide-Jørgensen, C. F. Christiansen [et al.] // *BJS open*. – 2020. – Vol. 4, № 2. – P. 284–292.
122. Rekhraj S. Can intra-operative intraperitoneal free cancer cell detection techniques identify patients at higher recurrence risk following curative colorectal cancer resection: A meta-analysis / S. Rekhraj, O. Aziz, S. Prabhudesai [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2008. – Vol. 15, № 1. – P. 60–68.
123. Ricci-Vitiani L. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells / L. Ricci-Vitiani, D. G. Lombardi, E. Pilozzi [et al.] // *Nature*. – 2007. – Vol. 445, № 7123. – P. 111–115.
124. Rodríguez-Ortiz L. Colorectal peritoneal metastases: Optimal management review / L. Rodríguez-Ortiz, Á. Arjona-Sánchez, S. Rufián-Peña [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2019. – Vol. 25, № 27. – P. 3484–3502.
125. Roger, S. Riley Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 2017.C. 890–912.
126. Rout, S. Treatments and outcomes of peritoneal surface tumors through a centralized national service (United Kingdom) / S. Rout, A. G. Renehan, M. F. Parkinson [et al.] // *Diseases of the Colon and Rectum*. – 2009. – Vol. 52, № 10. – P. 1705–1714.
127. Roy, S. Signaling in colon cancer stem cells / S. Roy, A.P.N. Majumdar // *Journal of Molecular Signaling*. – 2012. – Vol. 7, № 1. – P. 11-16.
128. Rutella, S. Cells with Characteristics of Cancer Stem/Progenitor Cells Express the CD133 Antigen in Human Endometrial Tumors / S. Rutella, G. Bonanno, A. Procoli [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2009. – Vol. 15, № 13. – P. 4299–4311.
129. Sadeghi, B. Peritoneal carcinomatosis from non-gynecologic malignancies: Results of the EVOCAPE 1 multicentric prospective study / B. Sadeghi, C. Arvieux, O. Glehen [et al.] // *Cancer*. – 2000. – Vol. 88, № 2. – P. 358–363.
130. Saigusa, S. Clinical Significance of CD133 and Hypoxia Inducible Factor-1 α Gene Expression in Rectal Cancer after Preoperative Chemoradiotherapy / S. Saigusa,

K. Tanaka, Y. Toiyama [et al.] // *Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 23, № 5. – P. 323–332.

131. Salnikov A. V. CD133 is indicative for a resistance phenotype but does not represent a prognostic marker for survival of non-small cell lung cancer patients / A. V. Salnikov, J. Gladkich, G. Moldenhauer [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2010. – Vol. 126, № 4. – P. 950–958.

132. Sammartino P. Prevention of peritoneal metastases from colon cancer in high-risk patients: Preliminary results of surgery plus prophylactic HIPEC / P. Sammartino, S. Sibio, D. Biacchi [et al.] // *Gastroenterology Research and Practice*. – 2012. – Vol. 2012, № 2012. – P. 1-7.

133. Sammartino, P., Tommaso C. Proactive Management of Endoperitoneal Spread in Colonic Cancer (PROMENADE) (NCT02974556) [Электронный ресурс]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02974556>.

134. Santvoort, H. C. van Peritoneal carcinomatosis in T4 colorectal cancer: Occurrence and risk factors / H.C. van Santvoort, H.J. Braam, K.R. Spekrijse [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2014. – Vol. 21, № 5. – P. 1686–1691.

135. Schmidt, U. Perioperative morbidity and quality of life in long-term survivors following cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy / U. Schmidt, M. H. Dahlke, J. Klempnauer [et al.] // *European Journal of Surgical Oncology*. – 2005. – Vol. 31, № 1. – P. 53–58.

136. Schneider, M. Characterization of colon cancer cells: A functional approach characterizing CD133 as a potential stem cell marker / M. Schneider, J. Huber, B. Hadaschik [et al.] // *BMC Cancer*. – 2012. – Vol. 12, № 1. – P. 96-107.

137. Sedo, A. Dipeptidyl peptidase-IV and related molecules: Markers of malignancy? / A. Sedo, J. Stremenova, P. Busek [et al.] // *Expert Opinion on Medical Diagnostics*. – 2008. – Vol. 2, № 6. – P. 677–689.

138. Segelman, J. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer / J. Segelman, F. Granath, T. Holm [et al.] // *British Journal of Surgery*. – 2012. – Vol. 99, № 5. – P. 699–705.

139. Seo, K. J. Prognostic implications of adhesion molecule expression in colorectal cancer / K.-J. Seo, M. Kim, J. Kim // *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 4148–4157.
140. Shmelkov, S. V. CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133 + and CD133- metastatic colon cancer cells initiate tumors / S. V. Shmelkov, J. M. Butler, A. T. Hooper [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2008. – Vol. 118, № 6. – P. 2111–2120.
141. Sibio, S. Detection methods and clinical significance of free peritoneal tumor cells found during colorectal cancer surgery / S. Sibio, C. Fiorani, C. Stolfi [et al.] // *World Journal of Gastrointestinal Surgery*. – 2015. – Vol. 7, № 9. – P. 178.
142. Silva, R. G. da Analysis of Prognostic Factors in Seventy Patients Having a Complete Cytoreduction plus Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy for Carcinomatosis from Colorectal Cancer / R. G. da Silva, P. H. Sugarbaker // *Journal of the American College of Surgeons*. – 2006. – Vol. 203, № 6. – P. 878–886.
143. Speyer, J. L. Portal Levels and Hepatic Clearance of 5-Fluorouracil after Intraperitoneal Administration in Humans / J. L. Speyer, P. H. Sugarbaker, J. M. Collins [et al.] // *Cancer Research*. – 1981. – Vol. 41, № 5. – P. 1916–1922.
144. Stephens, A. D. Morbidity and mortality analysis of 200 treatments with cytoreductive surgery and hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy using the coliseum technique / A. D. Stephens, R. Alderman, D. Chang [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 1999. – Vol. 6, № 8. – P. 790–796.
145. Sugarbaker, P. H. Peritonectomy procedures // P. H. Sugarbaker // *Annals of surgery*. – 1995. – Vol. 221, № 1. – P. 29-42.
146. Sugarbaker, P. H. Revised guidelines for second-look surgery in patients with colon and rectal cancer / P. H. Sugarbaker // *Clinical and Translational Oncology*. – 2010. – Vol. 12, № 9. – P. 621–628.
147. Sung, H. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209–249.

148. Tabu, K. Analysis of an alternative human CD133 promoter reveals the implication of Ras/ERK pathway in tumor stem-like hallmarks / K. Tabu, T. Kimura, K. Sasai [et al.] // *Molecular Cancer*. – 2010. – Vol. 9. – P. 1–15.
149. Tamaki, S. Engraftment of sorted/expanded human central nervous system stem cells from fetal brain / S. Tamaki, K. Eckert, D. He [et al.] // *Journal of Neuroscience Research*. – 2002. – Vol. 69, № 6. – P. 976–986.
150. Tanaka, T. Cloning and functional expression of the T cell activation antigen CD26 / T. Tanaka, D. Camerini, B. Seed [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 1992. – Vol. 149, № 2. – P.481-486.
151. Thomas, A. Fleisher, Joao B. Oliveira *Clinical Immunology: Principles and Practice* 2019.C. 1239–1251.
152. Tirino, V. Detection and characterization of CD133+ cancer stem cells in human solid tumours / V. Tirino, V. Desiderio, R. d'Aquino [et al.] // *PLoS ONE*. – 2008. – Vol. 3, № 10. – P. 3469-3479.
153. Todaro, M. CD44v6 is a marker of constitutive and reprogrammed cancer stem cells driving colon cancer metastasis / M. Todaro, M. Gaggianesi, V. Catalano [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2014. – Vol. 14, № 3. – P. 342–356.
154. Uchida, N. Direct isolation of human central nervous system stem cells / N. Uchida, D. W. Buck, D. He [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2000. – Vol. 97, № 26. – P. 14720–14725.
155. Varnat, F. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-GLI signalling that is essential for tumour growth, recurrence, metastasis and stem cell survival and expansion / F. Varnat, A. Duquet, M. Malerba [et al.] // *EMBO Molecular Medicine*. – 2009. – Vol. 1, № 6–7. – P. 338–351.
156. Varnat, F. Loss of WNT-TCF addiction and enhancement of HH-GLI1 signalling define the metastatic transition of human colon carcinomas / F. Varnat, I. Siegl-Cachedenier, M. Malerba [et al.] // *EMBO Molecular Medicine*. – 2010. – Vol. 2, № 11. – P. 440–457.

157. Vermeulen, L. Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity / L. Vermeulen, M. Todaro, F. de Sousa Mello [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2008. – Vol. 105, № 36. – P. 13427–13432.
158. Verwaal, V. J. Toxicity of Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intra-Peritoneal Chemotherapy / V. J. Verwaal, H. Van Tinteren, S V. Ruth [et al.] // *Journal of Surgical Oncology*. – 2004. – Vol. 85, № 2. – P. 61–67.
159. Verwaal, V. J. Long-term survival of peritoneal carcinomatosis of colorectal origin / V. J. Verwaal, S. van Ruth, A. Witkamp [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2005. – Vol. 12, № 1. – P. 65–71.
160. Verwaal, V. J. 8-Year follow-up of randomized trial: Cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer / V. J. Verwaal, S. Bruin, H. Boot [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2008. – Vol. 15, № 9. – P. 2426–2432.
161. Wang, B.-B. Clinical significance of stem cell marker CD133 expression in colorectal cancer / B.-B. Wang, Z.-J. Li, F.-F. Zhang [et al.] // *Histology and histopathology*. – 2016. – Vol. 31, № 3. – P. 299–306.
162. Wang, S. J. CD44 Variant isoforms in head and neck squamous cell carcinoma progression / S. J. Wang, G. Wong, A.-M. de Heer [et al.] // *Laryngoscope*. – 2009. – Vol. 119, № 8. – P. 1518–1530.
163. Wang, Y. K. Activation of Akt and MAPK pathways enhances the tumorigenicity of CD133+ primary colon cancer cells / Y.K. Wang, Y. L. Zhu, F.M. Qiu [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2010. – Vol. 31, № 8. – P. 1376–1380.
164. Wang, Z. The prognostic and clinical value of CD44 in colorectal cancer: A meta-analysis / Z. Wang, Y. Tang, L. Xie [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2019. – Vol. 9. – P. 1–11.
165. Wangenstein, O. H. Cancer of the colon and rectum; with special reference to earlier recognition of alimentary tract malignancy; secondary delayed re-entry of the abdomen in patients exhibiting lymph node involvement; subtotal primary excision of

the colon; operation in obstruction // Wisconsin medical journal. – 1949. – Vol. 48, № 7. – P. 591–597.

166. Weiser, M. R. AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer / M. R. Weiser // Annals of Surgical Oncology. – 2018. – Vol. 25, № 6. – P. 1454–1455.

167. Witkamp, A. J. Extensive cytoreductive surgery followed by intra-operative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with mitomycin-C in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin / A.J. Witkamp, E. de Bree, M.M. Kaag [et al.] // European Journal of Cancer. – 2001. – Vol. 37, № 8. – P. 979–984.

168. Xu, Y. TGF- β signaling alterations and susceptibility to colorectal cancer / Y. Xu, B. Pasche // Human Molecular Genetics. – 2007. – Vol. 16, № R1. – P. 1–13.

169. Yamaguchi, A. Expression of a CD44 variant containing exons 8 to 10 is a useful independent factor for the prediction of prognosis in colorectal cancer patients / A. Yamaguchi, T. Urano, T. Goi [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 1996. – Vol. 14, № 4. – P. 1122–1127.

170. Yamane, N. Soluble CD44 variant 6 as a prognostic indicator in patients with colorectal cancer / N. Yamane, S. Tsujitani, M. Makino [et al.] // Oncology. – 1999. – Vol. 56, № 3. – P. 232–238.

171. Yan, T. D. Perioperative outcomes of cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy for non-Appendiceal peritoneal carcinomatosis from a prospective database / T. D. Yan, L. Zappa, G. Edwards [et al.] // Journal of Surgical Oncology. – 2007. – Vol. 96, № 2. – P. 102–112.

172. Yan, T. D. Preoperative investigations in the management of peritoneal surface malignancy with cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: Expert consensus statement / T. D. Yan, D. L. Morris, K. Shigeki [et al.] // Journal of Surgical Oncology. - 2008. – Vol. 98, № 4. – P. 224–227.

173. Yanagisawa, S. Identification and metastatic potential of tumor-initiating cells in malignant rhabdoid tumor of the kidney / S. Yanagisawa, I. Kadouchi, K. Yokomori [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2009. – Vol. 15, № 9. – P. 3014–3022.

174. Yang, Z. Expression of CD133 in SW620 colorectal cancer cells is modulated by the microenvironment / Z. Yang, Z. Wang, Y. Fan [et al.] // *Oncology Letters*. – 2012. – Vol. 4, № 1. – P. 75–79.
175. Yang, Z. L. Upregulated CD133 expression in tumorigenesis of colon cancer cells / Z.-L. Yang, Q. Zheng, J. Yan [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 17, № 7. – P. 932–937.
176. Yasuda, M. CD44 stimulation down-regulates Fas expression and Fas-mediated apoptosis of lung cancer cells / Z.-L. Yang, Qi Zheng, J. Yan [et al.] // *International Immunology*. – 2001. – Vol. 13, № 10. – P. 1309–1319.
177. Yin, A. H. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells / A. H. Yin, S. Miraglia, E. D. Zanjani [et al.] // *Blood*. – 1997. – Vol. 90, № 12. – P. 5002–5012.
178. Yonemura Y. A possible role of cytokines in the formation of peritoneal dissemination / Y. Yonemura, Y. Endou, N. Nojima [et al.] // *International Journal of Oncology*. – 1997. – Vol. 11, № 2. – P. 349–358.
179. Yonemura Y. Role of VEGF-C and VEGF-D in lymphangiogenesis in gastric cancer / Y. Yonemura, Y. Endo, K. Tabata [et al.] // *International Journal of Clinical Oncology*. – 2005. - Vol. 10, № 5. – P. 318–327.
180. Yonemura, Y. *The Natural History of Free Cancer Cells in the Peritoneal Cavity* под ред. S. González-Moreno, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007. С. 11–23.
181. Yu, X. CD133, stem cells, and cancer stem cells: Myth or reality? / X. Yu, Y. Lin, X. Yan [et al.] // *Current Colorectal Cancer Reports*. – 2011. – Vol. 7, № 4. – P. 253–259.
182. Yu, Y. AC133-2, a novel isoform of human AC133 stem cell antigen / Y. Yu, A. Flint, E. L. Dvorin [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 2002. – Vol. 277, № 23. – P. 20711–20716.

183. Zeilstra, J. Stem cell CD44v isoforms promote intestinal cancer formation in Apc(min) mice downstream of Wnt signaling / J Zeilstra, S.P.J. Joosten, H. van Andel [et al.] // *Oncogene*. – 2014. – Vol. 33, № 5. – P. 665–670.

184. Zhao S. CD44 expression level and isoform contributes to pancreatic cancer cell plasticity, invasiveness and response to therapy / S. Zhao, C. Chen, K. Chang [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 2016. – Vol. 22, № 22. – P. 5592–5604.