

На правах рукописи

ВЫШЕГОРОДЦЕВ ДМИТРИЙ ВЯЧЕСЛАВОВИЧ

**ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ СЕМЕЙНОГО АДЕНОМАТОЗА
ТОЛСТОЙ КИШКИ С РЕКОНСТРУКЦИЕЙ СЛИЗИСТОЙ
ОБОЛОЧКИ ПРЯМОЙ КИШКИ**

14.01.17. – Хирургия

03.02.07 – Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва - 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Ачкасов Сергей Иванович, доктор медицинских наук, профессор

Цуканов Алексей Сергеевич, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Благовестнов Дмитрий Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, декан хирургического факультета, заведующий кафедрой неотложной и общей хирургии.

Рогаль Михаил Леонидович, доктор медицинских наук, профессор

ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», заместитель директора по научной работе.

Акуленко Лариса Вениаминовна, доктор медицинских наук, профессор

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, заведующая кафедрой медицинской генетики.

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Защита состоится «_____» _____ 2020 г. в «_____» часов на заседании Диссертационного совета Д 208.021.01 на базе ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России по адресу: 123423, г. Москва, ул. Саляма Адила, д. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «ГНЦК им А.Н. Рыжих» Минздрава России и на сайте www.gnck.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2020 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета

кандидат медицинских наук

И.В. Костарев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Семейный аденоматоз толстой кишки (САТК) - это аутосомно-доминантный наследственный синдром, при котором в толстой кишке развиваются множественные аденоматозные полипы. САТК может сопровождаться выраженными водно-электролитными нарушениями и анемией. Без хирургического лечения колоректальный рак развивается неизбежно [Федоров В.Д. и соавт., 1985; Юхтин В.И. и соавт., 1978]. Возникновение этого заболевания обусловлено мутациями в гене *APC* (Adenomatous Polyposis Coli), ответственного за нормальную пролиферацию слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [Becker J.M. et al., 1997; Bisgaard M.L. et al., 1994; Bodmer W.F. et al., 1987; Fearnhead N. Et al., 2001; Groden J. et al., 1991]. По частоте встречаемости среди наследственных раковых синдромов толстой кишки САТК находится на втором месте, уступая только синдрому Линча [Rozen P. et al., 2006].

В настоящее время, очевидно, что хирургическое лечение САТК для предотвращения рака подразумевает удаление всей толстой кишки. Но концепция хирургического лечения этого наследственного заболевания эволюционировала многие десятилетия. Прежде всего, на протяжении значительного периода времени существовали большие разногласия об объеме хирургического вмешательства при САТК. Нередко выполнялись хирургические операции, направленные на удаление отделов толстой кишки, наиболее пораженных полипами. Оставшиеся отделы толстой кишки позволяли выполнять операции с сохранением естественной кишечной непрерывности [Кузьминов А.М., 1983; Федоров В.Д. и соавт., 1985]. Подобная хирургическая стратегия была обусловлена стремлением хирургов избавить больных от постоянной илеостомы. Однако, очевидно, что в долгосрочной перспективе в оставшихся отделах толстой кишки неизбежно возникнет рак.

Поворотным событием в хирургии САТК стал 1978 год, когда был предложена операция с формированием тонкокишечного резервуара [Parks A.G. et al., 1978]. Этот метод стал широко применяться во всем мире и были предложены различные модификации резервуара. Однако в настоящее время двухпетлевая J-образная конфигурация тонкокишечного резервуара, вытеснив все остальные модели, используется практически повсеместно [Utsunomiya J. Et al.,1980]. Это объясняется относительно технической простотой выполнения операции и, как выяснилось, отсутствием влияния конфигурации резервуара на функциональные результаты хирургического лечения в отдаленном периоде [Fazio V.W. et al., 2013; Kartheuser A. Et al.,2006].

Сегодня в арсенале хирургического лечения САТК есть только две операции, которые позволяют сохранить естественную кишечную дефекацию. В первую очередь, это - колпроктэктомия с формированием тонкокишечного резервуара. Реже применяется колэктомия с илеоректальным анастомозом [Ambroze W.L. et al., 1992; Björk J. Et al., 2001; Bülow S. Et al., 2008; Fazio V.W. et al., 2013 ; Gunther K. et al., 2003; Kartheuser A. et al., 2006; Nieuwenhuis M. et al., 2007; Parc Y. et al., 2004; Soravia C.L. et al., 1999]. Хотя, многие авторы, сравнивая функциональные результаты этих операций, отмечают, что при илеоректальном анастомозе они лучше за счет сохранения прямой кишки. Однако, высокий риск развития рака в оставшейся прямой кишке является сдерживающим фактором для широкого применения этой операции [Aziz O. Et al., 2006; Björk J. Et al., 2001]. Поэтому, сегодня, несмотря на снижение качества жизни больных, операция с формированием тонкокишечного резервуара стала методом выбора в хирургическом лечении САТК. Вместе с тем, несмотря на значительный накопленный опыт выполнения подобных операций, остается ряд важных нерешенных вопросов.

В 1986 году было предложено сохранение наданальной части прямой кишки и формирование наданального резервуароректального анастомоза при помощи циркулярного сшивающего аппарата [Heald R.J. et al., 1986]. С этого момента вопрос выбора между ручным илеоанальным и степлерным наданальным анастомозом остается одним из важнейших пунктов противоречий. Это обусловлено тем, что предложенная новая методика существенно упростила выполнение операции. Поэтому в настоящее время многие авторы предпочитают именно этот метод формирования анастомоза. Однако сохранение наданальной части прямой кишки несет в себе риск развития рака в этой зоне. Поэтому сегодня, по-прежнему, есть немало сторонников классической методики операции с формированием анастомоза между резервуаром и анальным каналом при помощи ручного шва. Несмотря на трудоемкость этого метода и возможное ухудшение функциональных результатов, они считают возможным при хирургическом лечении САТК применение только этой методики [Kartheuser A. Et al., 2006].

Колпроктэктомия с тонкокишечным резервуаром, являясь технически сложным вмешательством, требует серьезного обучения хирургов. Несмотря на большой накопленный опыт эти, операции сопровождаются значительным числом послеоперационных осложнений, 25-33,5%. При этом, возникшие в ближайшем послеоперационном периоде гнойно-септические осложнения в области тонкокишечного резервуара и резервуароректального анастомоза в отдаленные сроки после операции могут стать причиной неэффективности резервуара [Becker J.M. et al., 2004; Fazio V.W. et al., 2013 ; Colwell J.C. et al., 2001; Van Balkom K.A. et al., 2012]. Поэтому для достижения хороших отдаленных функциональных результатов лечения необходимо снижение частоты ближайших послеоперационных осложнений. Через несколько лет после операции функциональные результаты лечения могут существенно ухудшаться, что

связано с развитием таких осложнений как дилатация тонкокишечного резервуара, стриктура резервуароректального анастомоза, свищи резервуара, анальная инконтиненция, мочеполовые расстройства и снижение фертильности у женщин.

Все вышеперечисленные обстоятельства продемонстрировали актуальность разработки нового метода хирургического лечения САТК, который позволил бы снизить частоту ближайших послеоперационных осложнений и улучшил бы отдаленные функциональные результаты и повысил качество жизни пациентов. Предложенный метод операции предусматривает сохранение нижеампулярного отдела прямой кишки с максимальным сохранением нервно-рефлекторных связей этой анатомической зоны. С целью снижения онкологического риска предложено выполнять мукозэктомию сохраненной части прямой кишки и осуществлять реконструкцию слизистой оболочки прямой кишки методом аллогенной клеточной трансплантации. Необходимость в изучении эффективности клеточной трансплантации для реконструкции слизистой оболочки, оценке эффективности разработанного метода операции при САТК побудило нас к проведению данного проспективного нерандомизированного одnogруппового исследования. При анализе научной мировой литературе нами не найдено аналогов данного исследования.

Цель исследования

Улучшение результатов хирургического лечения больных семейным аденоматозом толстой кишки.

Задачи исследования

1. Разработать новый метод хирургической операции по поводу САТК с применением клеточных биотехнологий, который позволил бы

существенно отсрочить развитие новых полипов при сохранении участка прямой кишки.

2. Оценить возможности клеточной трансплантации для реконструкции слизистой оболочки прямой кишки и изучить реакцию организма на имплантацию клеточного материала.

3. На основании эндоскопических, морфологических и иммуногистохимических исследований провести сравнительный анализ темпов репарации слизистой оболочки, изучить патогенетические механизмы и морфологические проявления репарации слизистой оболочки прямой кишки после мукозэктомии и применения клеточной трансплантации.

4. Оценить непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения САТК с применением клеточных биотехнологий.

5. На основании профилометрии провести сравнительный анализ состояния ЗАПК в зависимости от метода мукозэктомии.

6. Оценить функциональные результаты лечения и уровень качества жизни оперированных больных САТК.

Научная новизна

Разработан и впервые применен метод хирургического лечения САТК с клеточной реконструкцией слизистой оболочки сохраненной дистальной части прямой кишки. Установлено, что восстановление реконструированной слизистой прямой кишки происходит в значительно более ранние послеоперационные сроки при использовании клеточных биотехнологий по сравнению с мукозэктомией прямой кишки без применения клеточной трансплантации. Впервые проведено изучение патогенетических механизмов и морфологических проявлений репарации слизистой оболочки прямой кишки после мукозэктомии и применения клеточной трансплантации.

Впервые разработан метод мукозэктомии прямой кишки после ее эвагинации, позволяющий осуществить полноценное удаление слизистой оболочки.

Выполнены объективная оценка и анализ ближайших и отдаленных результатов лечения, функциональных результатов и уровня качества жизни пациентов САТК, перенесших хирургическое лечение с применением клеточной реконструкции слизистой оболочки. Проведен эндоскопический мониторинг сохраненной части прямой кишки, который показал отсутствие роста аденом в отдаленные сроки после операции.

Практическая значимость работы

Разработан и внедрен в клиническую практику новый метод хирургического лечения САТК, отличительной особенностью которого является сохранение дистальной части прямой кишки, что позволяет минимизировать технические трудности при низведении тонкокишечного резервуара в малый таз и избежать натяжения кишки в области резервуароректального анастомоза. Этот технический прием значительно снижает вероятность несостоятельности анастомоза и возникновения тазовых гнойно-воспалительных осложнений.

Сохранение нервно-рефлекторных связей дистальной части прямой кишки в малом тазу способствует достижению хороших функциональных результатов лечения САТК. Применение клеточной трансплантации после мукозэктомии сохраненной части прямой кишки приводит к реконструкции слизистой оболочки в ранние сроки после операции, что позволяет избежать фиброза кишечной стенки и сохранить нормальное функциональное состояние прямой кишки. По материалам исследования получены четыре патента на изобретение.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Метод хирургического лечения САТК, включающий в себя сохранение дистальной части прямой кишки, приводит к снижению частоты ранних и поздних послеоперационных осложнений и улучшению функциональных результатов.

2. Клеточная трансплантация клеток эпителиального происхождения и мезенхимы в демукозировавшую прямую кишку не сопровождается синдромом отторжения, воспалительными и аллергическими реакциями организма пациентов и не оказывает отрицательного влияния на течение ближайшего послеоперационного периода.

3. Формирование слизистой оболочки после мукозэктомии прямой кишки при применении клеточной трансплантации согласно эндоскопическим, морфологическим и иммуногистохимическим исследованием наступает в гораздо более ранние сроки по сравнению с мукозэктомией без применения клеточной реконструкции и происходит при участии клеток с признаками стволовых клеток.

4. После реконструкции слизистой оболочки сохраненной части прямой кишки отсутствует рост аденоматозных полипов при медиане наблюдения 44,3 месяца.

5. Все пациенты, страдающие САТК, нуждаются в пожизненном медицинском наблюдении так как сохраняется риск развития злокачественных новообразований в других отделах ЖКТ и возможны внекишечные проявления этого заболевания.

Внедрение в практику

Основные положения диссертации используются в практической деятельности ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России и Городской клинической больницы №24 Департамента Здравоохранения г. Москвы. Результаты исследования

используются в учебном процессе кафедры колопроктологии ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России.

Апробация результатов исследования

Основные материалы диссертации были представлены и обсуждены на:

- научной конференции ГНЦ колопроктологии (Москва, 2007);
- научной конференции ГНЦ колопроктологии (Москва, 2008);
- научно-практической конференции «Внедрение инновационных технологий в колопроктологию» (Астрахань, 2010);
- научной конференции ГНЦ колопроктологии Минздравсоцразвития России (Москва, 2010);
- научной конференции Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. Академика В.И.Кулакова Минздравсоцразвития России (Москва, 2010);
- III Всероссийском Съезде Колопроктологов (Белгород, 2011);
- научной конференции ГНЦ колопроктологии Минздравсоцразвития (Москва, 2011);
- научно-практической конференции «Медицинская реабилитация в колопроктологии» (Ставрополь, 2012);
- VII конгрессе (ESCP) Европейского общества колопроктологов (Вена, 2012);
- III съезде хирургов ЮГА России (Астрахань, 2013);
- VIII конгрессе (ESCP) Европейского общества колопроктологов (Белград, 2013);
- научной конференции ГНЦ колопроктологии (Москва, 2013);
- I Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2013);
- форуме «За здоровую жизнь», «Эпидемиология и профилактика рака» (Москва, 2013);

- всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы колопроктологии» (Смоленск, 2014).
- IX конгрессе (ESCP) Европейского общества колопроктологов (Барселона, 2014);
- научной конференции ГНЦ колопроктологии Минздравсоцразвития (Москва, 2015);
- международном объединенном конгрессе ассоциации колопроктологов России и первом ESCP/ECCO (Москва, 2015);
- VIII Всероссийском съезде онкологов (Санкт-Петербург, 2013);
- X конгрессе (ESCP) Европейского общества колопроктологов (Дублин, 2015);
- XI конгрессе (ESCP) Европейского общества колопроктологов (Милан, 2016);

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научной конференции коллектива сотрудников отдела онкопроктологии и отдела общей колопроктологии с группой изучения семейного аденоматоза толстой кишки ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России от 27 июня 2019 г.

Публикации

- По материалам исследования опубликовано 24 научных работ, включая 10 публикаций в ведущих отечественных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации материалов докторских диссертаций. Получены 4 патента на изобретение (Способ лечения семейного аденоматоза толстой кишки. Патент на изобретение №2402983. Способ сохранения естественного кишечного пассажа у больных семейным аденоматозом толстой кишки после колэктомии. Патент на изобретение №2442543. Способ формирования резервуароректального

анастомоза при хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки. Патент на изобретение №2692986. Способ отсроченной мукозэктомии дистальной части прямой кишки при хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки. Патент на изобретение № 2696956).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 216 страницах машинописного текста в редакторе Microsoft Word 2013 for Windows шрифтом Times Roman кеглем №14, состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает в себя 283 источник, из них – 21 отечественный, 262 – зарубежных. Диссертация содержит 23 таблицы и иллюстрирована 46 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Исследование является мультицентровым, проспективным, одnogрупповым.

Работа выполнена на базе ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации – название на момент проведения исследования).

Разработан новый метод хирургического лечения САТК, который предусматривает колэктомию с резекцией прямой кишки и сохранение дистальной части прямой кишки (6-8см). В сохраненной части прямой кишки производится удаление слизистой оболочки (мукозэктомия) и выполняется

аллотрансплантация суммарной культуры мезенхимы различного происхождения и фетальных клеток эпителиального происхождения. Целью клеточной трансплантации является реконструкция слизистой оболочки прямой кишки. Производится формирование тонкокишечного резервуара и наложение резервуароректального анастомоза (РРА). Сохранение нижеампулярного отдела прямой кишки (или его части) позволяет минимизировать повреждение нервно-рефлекторных связей этой анатомической зоны, что, предположительно, должно способствовать улучшению функциональных результатов лечения, а также облегчить формирование РРА.

В исследование включены больные САТК, давшие согласие на участие в исследовании и применение клеточной трансплантации.

Критериями исключения пациентов из исследования явились:

1. Тяжелая дисплазия полипов или рак нижеампулярного и среднеампулярного отделов прямой кишки
2. Наличие местнораспространенного рака ободочной кишки или распространенного злокачественного процесса.
3. Недостаточность анального сфинктера 2-3 степени.
4. Психические заболевания пациента.
5. Выраженные метаболические нарушения у пациента.
6. Наличие десмоидных опухолей брыжейки тонкой кишки.

Исследование обобщает анализ результатов хирургического лечения и динамического наблюдения 57 больных САТК, оперированных в соответствии с разработанным протоколом лечения за период с декабря 2006 по май 2015 гг.

Больные САТК исследуемой группы были в возрасте от 18 до 54 лет ($29,3 \pm 8,6$). Подавляющее число пациентов, 46/57 (80,7%), были в возрасте от 20 до 39 лет. У всех больных было тотальное поражение толстой кишки аденомами различного диаметра. У 6/57 (10,5%) пациентов перед операцией диагностирован рак толстой кишки. Генетическое тестирование выполнено 35/57 (61,4%) пациентам. Мутации обнаружены у 25/35 (71,4%) больных. У 23/35 (65,7%) обнаружена мутация в гене *APC*. У 2/35 (5,7%) обнаружены мутации в гене *MutYH*.

Для проведения сравнительных морфологических и иммуногистохимических исследований с целью изучения процессов и темпов репарации слизистой оболочки прямой кишки была сформирована контрольная группа больных САТК, состоящая из 19 человек. У всех этих больных была классическая форма заболевания, тотальное поражение толстой кишки полипами. Выполнена операция аналогичная операции в основной группе. Клеточная трансплантация после мукозэктомии прямой кишки не производилась, что стало главным отличием от основной группы больных САТК.

Клеточная биотехнология и техника операции

Для реконструкции слизистой оболочки в демукозировавшую дистальную часть прямой кишки осуществляли аллотрансплантацию суммарной культуры фетальных аллогенных соматических клеток кишечного эпителия и мезенхимы печеночного и костномозгового происхождения, обогащенной стволовыми и прогениторными предшественниками. Время культивирования составило 10-12 суток (3-4 пассажа). Общее количество трансплантированных клеток $400-450 \times 10^6$. Жизнеспособность культур – 85-90% всех клеток. Через 14-15 дней после операции проводилось дополнительное эндоректальное эндоскопическое введение фетальных

клеток эпителиального происхождения (100 мл). Одновременно внутривенно осуществлялось введение мезенхимальных клеток-предшественников гемопоэтического происхождения (100 млн). При помощи подкожных инъекций имплантировали комплекс биологически активных ростовых факторов фетального происхождения. Культура представлена гетерогенной группой эмбриональных клеток крупных размеров, экспрессирующих маркеры стволовости, а также маркеры мезенхимальной и эпителиальной дифференцировки - Oct4, Vimentin, CD34, CD117, Desmin, E-cadherin, CKW и обладающих высокой пролиферативной активностью по Ki 67.

Пятидесяти двум пациентам из 57 (91,2%) были выполнены хирургические вмешательства открытым способом, 5/57 (8,8%) больным произведены лапароскопические операции. Выполнялась колэктомия, мобилизация прямой кишки осуществлялась до нижеампулярного отдела. Формировали J-образный тонкокишечный резервуар. Одновременно выполняли трансанальное удаление слизистой оболочки прямой кишки (мукозэктомия). Этот этап операции выполнялся в двух вариантах.

1 вариант мукозэктомии прямой кишки.

Вначале демукозацию прямой кишки проводили трансанально, выполняя циркулярный разрез слизистой оболочки сразу над зубчатой линией. Используя электрокоагуляцию, отделение слизистой оболочки выполнялось на 3-4см в проксимальном направлении. Дальнейшее удаление слизистой оболочки выполняли после эвагинации прямой кишки, которая производилась при помощи булавовидного бужа. Мукозэктомия выполняли при помощи электрокоагуляции. Этот вариант применен у 39/57 (68,4%) больных.

После этого осуществляли введение клеточного материала в мышечный слой демукозированной прямой кишки инъекционным методом.

После завершения этапа клеточной трансплантации эвагинированную прямую кишку отсекали у проксимальной границы введения клеточного материала. Прямую кишку прошивали линейным сшивающим аппаратом и инвагинировали в таз. Протяженность сохраненной части прямой кишки составляла 6 - 8 см. После этого тонкокишечный резервуар низводили в малый таз и формировали РРА. Операцию во всех случаях завершали формированием превентивной илеостомы.

2 вариант мукоэктомии прямой кишки.

Этот вариант мукоэктомии выполнялся в тех случаях, когда анатомические условия (избыточный липоматоз мезаректум, узкий таз), рубцовый процесс в тазу в результате ранее перенесенных операций с формированием асцендоректальных анастомозов не позволяли осуществить эвагинацию прямой кишки. Выполняли колэктомию с резекцией прямой кишки, формировали тонкокишечный резервуар и накладывали РРА. Мукоэктомию прямой кишки выполняли через 1,5 - 2 месяца после первой операции после обследования, только при отсутствии дефектов в анастомозе или тонкокишечном резервуаре. Данная методика мукоэктомии была применена у 18/57 (31,6%) пациентов.

Результаты клеточной реконструкции слизистой оболочки прямой кишки

В соответствии с протоколом исследования все пациенты, перенесшие хирургическое лечение САТК с формированием тонкокишечного резервуара и клеточной реконструкцией слизистой оболочки прямой кишки, регулярно проходили обследование, первоочередной задачей которого было осуществление контроля над состоянием сохраненной части прямой кишки, РРА и тонкокишечного резервуара.

Всем больным осуществляли регулярные эндоскопические обследования прямой кишки и тонкокишечного резервуара как в ближайшем

послеоперационном периоде, так и в отдаленные сроки после операции. Через 2 недели после операции у всех 57 пациентов эндоскопическая картина была сходной. На фоне больших участков некроза, наложений фибрина уже визуализировались очаги молодой, незрелой эпителиальной выстилки. Через 4 недели после хирургического вмешательства выявлено, что у 44/57 (77,2%) больных поверхность прямой кишки была розового цвета, уже без контактной кровоточивости и наложений фибрина, блестящая. Эндоскопическая картина соответствовала нормальной, неизменной слизистой прямой кишки (Рис. 1).

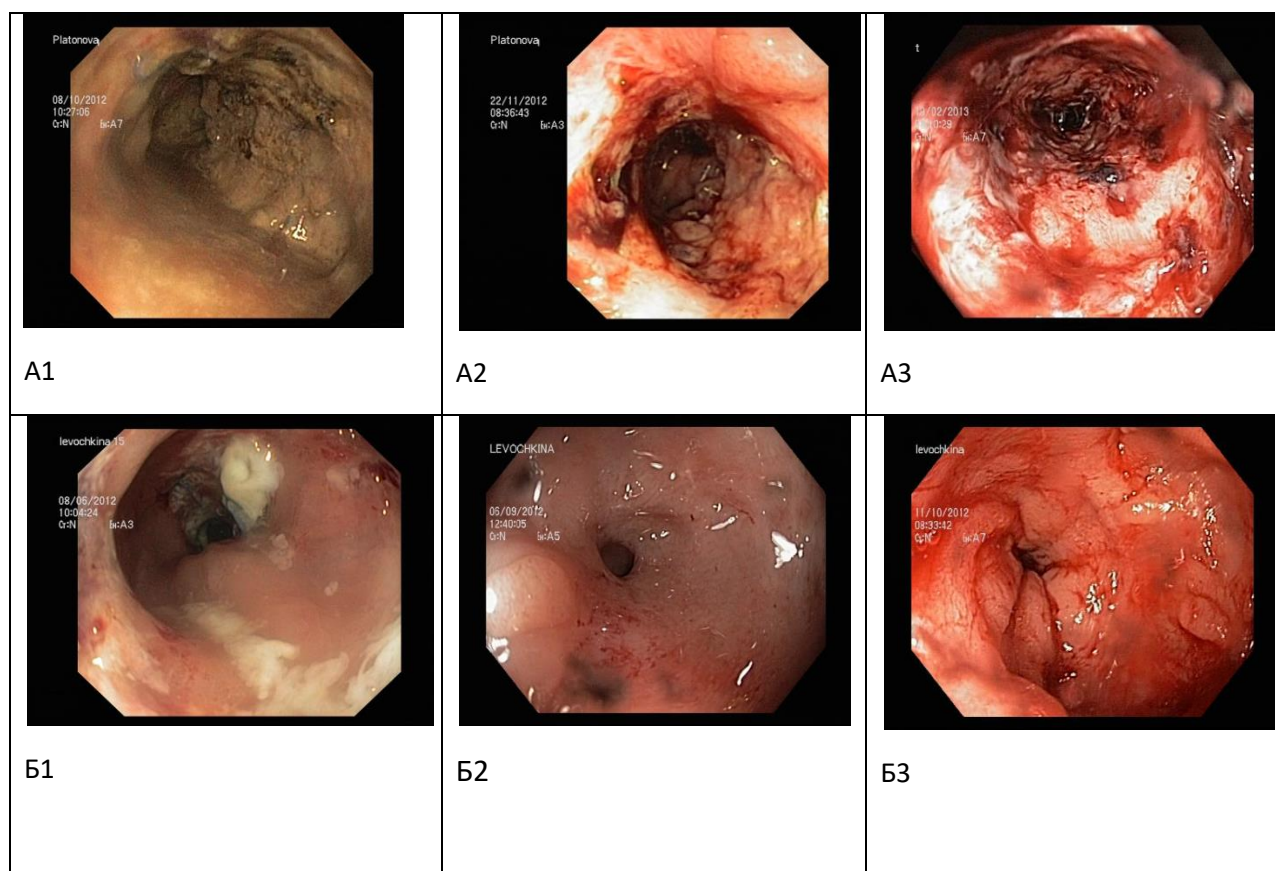


Рисунок 1. Эндоскопия. Эндофотографии прямой кишки в разные сроки после операции.

Условные обозначения:

А - контрольная группа (мукозэктомия без клеточной трансплантации)

A1 : 2 недели после мукозэктомии прямой кишки

A2: 3 месяца после мукозэктомии прямой кишки

A3 :5 месяцев после мукозэктомии прямой кишки

Б – основная группа (мукозэктомия с клеточной трансплантацией)

Б1: 2 недели после мукозэктомии и введения клеточного трансплантата

Б2: 3 месяца после мукозэктомии и введения клеточного трансплантата

Б3: 5 месяцев после мукозэктомии и введения клеточного трансплантата

Но у 13/57 (22,8%) больных полной реконструкции слизистой оболочки в эти сроки после операции не наступило, что потребовало дополнительного введения клеточного материала. Формирование реконструированной слизистой оболочки у них констатировано в сроки от 8 до 12 недель после операции. Таким образом, через 4 недели после операции у 44/57 (77,2%) отмечена полная реконструкция слизистой оболочки, а у всех 57 пациентов через 3 месяца после операции.

Сроки эндоскопического мониторинга за больными САТК после хирургического лечения с реконструкцией слизистой прямой кишки составили 19 - 120 месяцев (медиана – 44,3 мес.). Эндоскопический контроль осуществлен 53/57 (93%), прослеженным пациентам. Развитие аденоматозных полипов в оставшейся части прямой кишки не обнаружено ни в одном наблюдении.

Для анализа эффективности вводимого клеточного материала осуществлено изучение патогенетических механизмов и морфологических проявлений репарации слизистой оболочки прямой кишки после мукозэктомии и применения клеточной трансплантации. С этой целью проведен сравнительный анализ проявлений и сроков репарации слизистой оболочки в двух группах пациентов. Работа выполнена на материале 40 пациентов, перенесших хирургическое лечение САТК. Основную группу составили 21 пациент, которые прошли все этапы нового метода лечения САТК с применением клеточной реконструкции слизистой оболочки после мукозэктомии прямой кишки. Контрольную группу составили 19 пациентов, перенесших аналогичное хирургическое лечение САТК с мукозэктомией прямой кишки, но без клеточной реконструкции.

Эндоскопические исследования.

У всех больных основной группы (21 пациент) уже через 2 недели после клеточной трансплантации при эндоскопии демукозированной прямой кишки визуализировались небольшие участки незрелой эпителиальной выстилки, которые являлись формирующейся слизистой оболочкой.

Через 4 недели после клеточной трансплантации эндоскопическая картина свидетельствовала о том, что полная реконструкция слизистой оболочки прямой кишки произошла у 17/21(81%) пациентов основной группы. Поверхность прямой кишки была блестящая, без контактной кровоточивости и наложений фибрина, прослеживался сосудистый рисунок, эластичность стенок прямой кишки сохранена. У остальных 4/21 (19%) пациентов основной группы через 1 месяц после операции участки формирующейся слизистой чередовались с протяженными участками грануляционной ткани. Всем этим пациентам проводилось дополнительное введение клеточного материала. Формирование реконструированной слизистой оболочки отмечено в сроки от 8 до 12 недель после операции.

У всех больных контрольной группы (19 пациентов) в течение первых 4 недель после мукоэктомии поверхность прямой кишки была представлена мышечными волокнами с выраженной гиперемией, контактной кровоточивостью и значительными участками наложений фибрина. Признаков эпителизации нет. Дальнейший эндоскопический мониторинг показал, что только через 6 недель после операции отмечено появление грануляционной ткани, а первые признаки эпителизации в демукозированной прямой кишке появлялись через 3 месяца после мукоэктомии. Только через 5 месяцев после операции при эндоскопическом обследовании поверхность прямой кишки была бледно-розового цвета, сосудистый рисунок не прослеживался, наложений фибрина не было, но, по-прежнему, сохранялась умеренная контактная ранимость. У всех 19 пациентов контрольной группы, по-прежнему, выявлялась грануляционная ткань. Окончательное формирование

эпителиальной выстилки прямой кишки констатировано в сроки 9-12 месяцев после мукозэктомии.

Таким образом, эндоскопическое исследование позволило выявить значительные различия в динамике репарации слизистой оболочки прямой кишки в основной группе пациентов с применением клеточной трансплантации по сравнению с контрольной группой пациентов без применения клеточных биотехнологий.

Морфологические исследования.

Через 2-4 недели после хирургического лечения при морфологическом исследовании биоптатов в обеих группах преобладала грануляционная ткань с остатками некротических масс.

Таблица 1. Сравнительная оценка выраженности некроза в демукозированной прямой кишке (среднее, М)

Сроки после операции	Основная группа (баллы) n=21	Контрольная группа (баллы) n=19	p*
1 месяц	1,6	4	0,0001
3 месяца	0	1,5	0,0001
5 месяцев	0	0	-

* Mann-Whitney U-test

В течение 3 месяцев после операции статистически достоверно выраженность некроза в основной группе была значительно меньше по сравнению с контрольной группой. Так, через 1 месяц после операции в группе пациентов с клеточной реконструкцией слизистой оболочки выраженность некроза составила 1,6 баллов, в группе больных без применения клеточной реконструкции – 4 балла ($p = 0,0001$). Через 3 месяца после операции в основной группе выраженность некроза – 0, в контрольной группе – 1,5 балла ($p = 0,0001$).

Выраженность грануляционной ткани была достоверно выше в основной группе больных по сравнению с контрольной группой через 1 месяц после операции (Табл. 2). Установлено, что в основной группе при морфологическом исследовании уже на двухнедельном сроке после операции грануляции были более зрелыми.

Таблица 2. Сравнительная оценка выраженности грануляционной ткани в демукозированной прямой кишке (среднее, М).

Сроки после операции	Основная группа (баллы) n=21	Контрольная группа (баллы) n=19	P*
1 месяц	3,6	2,7	0,004
3 месяца	2,5	4	0,0001
5 месяцев	0,4	0,4	0,0001

* Mann-Whitney U-test

Через 3 месяца после операции выраженность грануляций в основной группе заметно снижается за счет замещения ее зрелой соединительной тканью с формированием коллагеновых волокон и составляет 2,5 балла. В то время, как в контрольной группе выраженность грануляционной ткани, напротив, значительно возрастает – 4 балла ($p = 0,0001$). Через 5 месяцев после операции эти различия нивелируются.

Выраженность эпителиальной ткани через 1 месяц после операции в основной группе была 2,4 балла, в контрольной группе признаки эпителизации отсутствуют (Табл. 3). Особенно важно, что через 2 недели после операции в основной группе пациентов на поверхности биоптатов уже появлялись островки репарирующего эпителия. Через 3 месяца после операции морфологические различия в группах также сохранялись.

Таблица 3. Сравнительная оценка выраженности эпителизации в демукозированной прямой кишке (среднее, М).

Сроки после операции	Основная группа (баллы) n=21	Контрольная группа (баллы) n=19	p*
1 месяц	2,4	0	0,0001
3 месяца	5,1	2,1	0,0001
5 месяцев	6	5,1	0,001

* Mann-Whitney U-test

Выраженность эпителизации в группе пациентов с клеточной реконструкцией была 5,1 балла, в группе без клеточной реконструкции – 2,1 балла ($p = 0,0001$). В основной группе эпителизация слизистой в виде восстановления покровного эпителия и эпителия крипт занимала большую часть площади поверхности биоптата. В контрольной группе только на этом послеоперационном сроке начала прослеживаться реэпителизация в виде отдельных очагов на поверхности и в криптах слизистой. Только через 5 месяцев после операции выраженность эпителизации стенки прямой кишки среди пациентов контрольной группы оказалась сравнима с основной группой.

Фиброзная ткань в демукозированной прямой кишке в течение первых 3 месяцев после операции была представлена одинаково в обеих группах (Табл. 4). Однако, через 5 месяцев выраженность фиброзной ткани у пациентов контрольной группы значительно возрастает и составляет 4,8 баллов, в основной группе 2,0 балла ($p = 0,0001$). Это может свидетельствовать о потере эластичности стенки прямой кишки.

Таблица 4. Сравнительная оценка выраженности фиброза в демукозированной прямой кишке (среднее, М)

Сроки после операции	Основная группа (баллы) n=21	Контрольная группа (баллы) n=19	p*
1 месяц	0	0	-
3 месяца	2,0	2,0	-
5 месяцев	2,0	4,8	0,0001

* Mann-Whitney U-test

Таким образом, проведенное морфологическое исследование выявило различия в динамике восстановления слизистой оболочки прямой кишки в основной и контрольной группах. Репарация слизистой оболочки прямой кишки после мукозэктомии происходит на гораздо более ранних сроках при применении клеточной трансплантации по сравнению с контрольной группой. Морфологические исследования подтвердили высокие темпы репарации слизистой оболочки прямой кишки (4-6 недель) в основной группе и совпали с данными эндоскопического наблюдения.

Иммуногистохимические исследования.

У всех пациентов исследуемых групп выполнялись иммуногистохимические (ИГХ) исследования формирующейся слизистой оболочки в различные сроки после мукозэктомии.

Исследование формирующейся слизистой прямой кишки в обеих анализируемых группах позволило выявить клетки, обладающие иммуногистохимическими признаками стволовых клеток и, которые потенциально способны участвовать в репаративных процессах. Однако, на разных послеоперационных сроках формирования слизистой оболочки при

иммуногистохимическом исследовании биоптатов выявлены различия в темпах репаративных процессов в основной и контрольной группах.

Таблица 5. Иммуногистохимическая характеристика репарации слизистой прямой кишки в основной и контрольной группах (1 месяц после мукозэктомии).

Маркер	Экспрессия маркера (%)	Основная группа n=21	Контрольная группа n=19	p*
Ost4	эпителий	6,4	0	0,0001
	строма	4,8	0	0,002
Ki-67	эпителий	90,3	0	0,0001
	строма	21,7	93,1	0,001
CD34	эндотелий	96,7	73,4	0,0001
	строма	75	0	-
CD117	эпителий	2,9	0	0,002
	строма	11,3	0	0,0001
E-cad	эпителий	100	0	-
	строма	10	0	0,083
pCK	эпителий	100	0	-
	строма	10	0	0,083
Vim	эпителий	100	0	-
	строма	100	100	-
Des	эпителий	8,7	0	0,0001
	строма	75	15	0,0001

* Mann-Whitney U-test

На ранних сроках (1 месяц после клеточной трансплантации) индекс пролиферации по Ki67 в основной группе был 90,33%, в контрольной группе – 0% ($p = 0,0001$). Экспрессия Oct4, Vim, CD34 и CD117 статистически достоверно была выше в группе с применением клеточных технологий, чем в контрольной группе, а также в исходной слизистой оболочке прямой кишки (Табл. 5).

Это свидетельствует о том, что количество клеток с признаками стволовых клеток в формирующейся слизистой оболочке было значительно выше в группе с применением клеточной реконструкции слизистой прямой кишки по сравнению с контрольной группой и исходной слизистой оболочкой прямой кишки.

Через 3 месяца после мукоэктомии индекс пролиферации по Ki67 в группе больных с применением клеточной реконструкции слизистой в эпителии составил 62,33%, а в контрольной группе 73,95% (Табл. 6). В строме также показатели индекса пролиферации были несколько выше в контрольной группе. Эти различия недостоверны.

Эти данные говорят о том, что репаративные процессы в демукозированной прямой кишке среди пациентов основной группы опережают процессы формирования слизистой у больных контрольной группы. Это также подтверждается экспрессией Oct4, Vim, CD34 и CD117, свидетельствуя об аналогичной тенденции к количеству клеток с признаками стволовых клеток в демукозированной прямой кишке.

Через 5 месяцев после операции иммуногистохимическое исследование выявило аналогичное выравнивание экспрессии Oct4, CD34, CD117 в обеих исследуемых группах.

Таблица 6. Иммуногистохимическая характеристика репарации слизистой прямой кишки в основной и контрольной группах (3 месяца после мукозэктомии).

Маркер	Экспрессия маркера (%)	Основная группа n=21	Контрольная группа n=19	p*
Ost4	эпителий	0,8	0	0,0001
	строма	1,4	0	0,162
Ki-67	эпителий	62,3	74	0,268
	строма	20,4	38,2	0,06
CD34	эндотелий	78,6	65,0	0,0001
	строма	0	0	-
CD117	эпителий	0,3	0	0,021
	строма	6,7	3,0	0,002
E-cad	эпителий	100	100	-
	строма	0	0	-
pCK	эпителий	100	100	-
	строма	0	0	-
Vim	эпителий	2,5	0	0,063
	строма	100	100	-
Des	эпителий	1,6	0	0,083
	строма	16,2	12,0	0,162

* Mann-Whitney U-test

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение клеточной трансплантации суммарной культуры фетальных аллогенных соматических клеток кишечного эпителия и мезенхимы печеночного и костномозгового происхождения, обогащенной стволовыми и прогениторными предшественниками приводит к реконструкции слизистой

оболочки прямой кишки в достаточно короткие сроки. Проведенные эндоскопические и рентгенологические обследования показали, что у подавляющего числа пациентов (77,2%) через 4 недели после операции сформировалась практически неизменная слизистая оболочка прямой кишки. При этом была сохранена эластичность стенок прямой кишки.

Сравнительный анализ показал, что репарация слизистой оболочки прямой кишки после мукозэктомии происходит достоверно в более ранние сроки при введении клеточного материала по сравнению с контрольной группой без применения клеточных биотехнологий.

При применении клеточного аллотрансплантата после мукозэктомии механизмы репарации слизистой оболочки прямой кишки включают в себя появление клеток, которые несут экспрессию маркеров мезенхимальной и эпителиальной дифференцировки (Vim, CD34, CKW, Ecad), и обычно локализующихся в стенках сосудов грануляционной ткани, а также в участках репарирующего эпителия. Помимо этого, в основной группе уже через 2 недели при реакции на цитокератины (CKW) и Ecad выявляются участки репарирующего эпителия, в то время как визуализация эпителия в контрольной группе начиналась только через три месяца после операции. Анализ иммунофенотипов репарирующих клеток позволяет высказать предположение об участии механизмов мезенхимально-эпителиальной трансформации в этом процессе.

Ближайшие послеоперационные осложнения

В исследуемой группе больных САТК интраоперационных осложнений не было. Не выявлено клинически значимых отклонений в лабораторных показателях. Осложнения в ближайшем послеоперационном периоде, в течение 30 дней после операции, отмечены у 16/57 (28 %) пациентов (Табл. 7). Летальных исходов не было. Только у 2/57 (3,5%) пациентов развились осложнения, соответствующие III степени тяжести по Clavien-Dindo. У

остальных пациентов констатированы осложнения I и II степени сложности, которые не потребовали серьезных лечебных мероприятий.

Таблица 7. Характеристика ранних послеоперационных осложнений.

Осложнение по степени сложности Clavien – Dindo	Осложнение	Число пациентов
Степень I	Лихорадка	8 (14%)
	Раневая инфекция	3 (5,3%)
Степень II	Кровотечение из демукозированной прямой кишки	1 (1,8%)
	Несостоятельность тонкокишечного резервуара	2 (3,5%)
	Парез кишечника	2 (3,5%)
Степень III-а	Кровотечение из демукозированной прямой кишки (клипирование сосуда)	1 (1,8%)
Степень III-б	Перфорация тонкой кишки	1 (1,8%)

У 8/57 (14%) больных отмечена лихорадка в течение первых 4-8 дней после операции при отсутствии каких-либо воспалительных осложнений, что, по нашему мнению, могло быть обусловлено как общей реакцией организма на перенесенное хирургическое вмешательство, так и воспалением в демукозированной прямой кишке. У остальных 49/57 (86%) пациентов в

течение первых дней после операции температура тела не поднималась выше субфебрильных цифр. У 2/57 (3,5%) больных в ближайшем послеоперационном периоде имели место явления выраженного пареза ЖКТ. У 2/57 (3,5%) больных на 7 и 16 день после операции возникло кровотечение, источником которого была демукозирванная прямая кишка. У одной пациентки на 5 день после операции отмечена перфорация острой язвы тощей кишки. Это осложнение потребовало выполнения релапаротомии, ушивание перфоративного отверстия тонкой кишки, промывание и дренирование брюшной полости. Недостаточность швов тонкокишечного резервуара выявлена у 2/57 (3,5%) пациенток. У обеих отмечена недостаточность швов культи тонкокишечного резервуара. В исследуемой группе больных САТК не было ни одного случая несостоятельности РРА.

Осложнения в отдаленные сроки после операции

Прослежены 53/57 (93%) пациента после закрытия илеостомы. Сроки наблюдения составили 19 - 120 месяцев (медиана – 44,3 мес.). Поздние осложнения возникли у 5 (9,4%) больных (Табл. 8).

Таблица 8. Характер поздних послеоперационных осложнений

Осложнение	Общее число
Спаечная тонкокишечная непроходимость	3 (5,7%)
Свищ тонкокишечного резервуара	
Стриктура анастомоза	1 (1,9%)
	1 (1,9%)
Всего	5 (9,4%)

Спаечная тонкокишечной непроходимости стала причиной срочной операции у 3/53 (5,7%) больных. Свищ тонкокишечного резервуара с образованием гнойных полостей в тазу, дренирующихся во влагалище диагностирован у 1/53 (1,9%) пациентки. И еще у 1/53 (1,9%) больного возникла стриктура РРА. Таким образом, у 2 (3,5%) пациентов констатирована неэффективность тонкокишечного резервуара, которая была обусловлена возникновением свища тонкокишечного резервуара и рецидивирующей стриктурой РРА.

Таким образом, на основании приведенных данных можно утверждать, что предложенный новый метод хирургического лечения САТК с использованием клеточных биотехнологий позволил добиться хороших непосредственных результатов.

В сроки от 10 месяцев до 34 месяцев после операции у 11/53 (20,8%) больных диагностированы десмоидные фибромы. У троих больных десмоидные фибромы локализовались в передней брюшной стенке, у 5 – в брыжейке тонкой кишки и у 2- сочетанная локализация (брыжейка тонкой кишки и передняя брюшная стенка). Хирургическое лечение выполнено 8 больным, лекарственное лечение – 2 и 1 больной с десмоидной опухолью небольших размеров специального лечения не проводилось и осуществляется динамическое наблюдение. У 1 больной через 3 года после операции диагностирован рак двенадцатиперстной кишки. Выполнена операция панкреатодуоденальная резекция с последующей химиотерапией. В настоящее время больная обследована, признаков прогрессирования заболевания нет.

Функциональные результаты и оценка уровня качества жизни

Оценка функциональных результатов и уровня качества жизни после закрытия превентивной илеостомы проведена у 53/57 (93%) прослеженных пациентов.

Частота дефекации через 3 месяца после закрытия илеостомы у 24/53 (45,3%) больных колебалась от 2 до 6 раз, у 23/53 (43,4%) - до 8 раз, у 3/53 (5,7%) до 10 раз и у 3/53 (5,7%) пациентов стул бы 10 раз и более).

Через 12 месяцев после восстановления естественной анальной дефекации функциональные результаты проведенного хирургического лечения имели стабильную тенденцию к улучшению. Так, стул от 2 до 6 раз в сутки отмечали 28/53 (52,8%) пациентов, до 8 раз в день - 19/53 (35,8%), до 10 раз - 3/53 (5,7%). Только 3/53 (5,7%) пациента отмечали, что частота дефекации у них была 10 раз и более.

Изучение функции анального держания согласно анкетированию по шкале Векснера показало, что ее суммарная балльная оценка была хорошей уже через 3 месяца после закрытия превентивной илеостомы и составила 1,79 балла (Табл. 9).

Таблица 9. Средняя балльная оценка функции анального держания по шкале Векснера через 3 месяцев после закрытия превентивной илеостомы.

Параметр	Число баллов по шкале Векснера среднее (колебание параметра)
Неудержание жидкого кала	0,26 (0-3)
Неудержание газов	1,08 (0-3)
Использование прокладок	0,3 (0-4)
Изменение образа жизни	0,15 (0-3)
Итого	1,79

Через 12 месяцев после восстановления естественной анальной дефекации этот показатель составил 0,89 баллов, что свидетельствует об

улучшении функции анального держания к этому послеоперационному сроку у оперированных пациентов (Табл. 10).

Таблица 10. Средняя балльная оценка функции анального держания по шкале Векснера через 12 месяцев после закрытия превентивной илеостомы.

Параметр	Число баллов по шкале Векснера среднее (колебание параметра)
Неудержание жидкого кала	0,17 (0-2)
Неудержание газов	0,53 (0-3)
Использование прокладок	0,08 (0-3)
Изменение образа жизни	0,15 (0-3)
Итого	0,89

Если через 3 месяца после восстановления естественной анальной дефекации 27/53 (50,9%) пациентов отмечали дефекацию в ночное время, то через 12 месяцев только 3/53 (5,7%) пациента имели ночную дефекацию. Спустя 3 месяца после восстановления естественного кишечного пассажа по ЖКТ 10/53 (18,9%) больных соблюдали диету, позволяющую снизить частоту дефекации. Шесть пациентов из 53 (11,3%) прибегали к медикаментозной антидиарейной коррекции и 5/53 (9,4%) использовали прокладки. Через 12 месяцев после закрытия илеостомы никто из пациентов не соблюдал диету и не использовал медикаментозную антидиарейную коррекцию.

Функциональные результаты хирургического лечения САТК оценивались также и при помощи профилометрии. В процессе этого исследования осуществляется построение виртуальной модели

распределения профиля давления в анальном канале. Профилометрия была выполнена 33/53 (62,3%) пациентам в сроки от 12 до 48 месяцев (медиана – 14 мес.) после закрытия илеостомы (Табл. 11). У обследованных пациентов было отмечено некоторое снижение среднего давления в анальном канале в покое.

Таблица 11. Результаты профилометрии после операции (n=33).

Показатель	Ме (квартили)	Min-max
Среднее давление в анальном канале в покое, мм рт. ст. (норма $52,2 \pm 8,2$)	49 (45;64)	27 - 73
Максимальное давление в анальном канале в покое, мм рт. ст. (норма $100,8 \pm 11,4$)	111 (90; 119)	69 - 140
Среднее давление в анальном канале при волевом сокращении, мм рт. ст. (норма $76,6 \pm 8,9$)	109,6 (84; 129)	64,6 – 142,6
Максимальное давление в анальном канале при волевом сокращении, мм рт. ст. (норма $137,1 \pm 12,6$)	190 (180; 208)	128 – 237,5

Проведен анализ результатов профилометрии в зависимости от метода мукозэктомии сохраненной части прямой кишки (Табл. 12). При этом выявлены статистически значимые различия в показателях среднего давления в анальном канале в покое, максимального давления в анальном канале в покое и среднего давления в анальном канале при волевом сокращении.

Таблица 12. Сравнительный анализ результатов профилометрии в зависимости от метода мукозэктомии.

Показатель	Метод мукозэктомии		p*
	Эвагинационный (n=21) Me (квартили)	Трансанальный (n=12) Me (квартили)	
Среднее давление в анальном канале в покое, мм рт. ст. (норма 52,2±8,2)	47 (43; 60)	62 (53,6; 69)	0,02
Максимальное давление в анальном канале в покое, мм рт. ст. (норма 100,8±11,4)	95 (89; 113,6)	120 (103; 122)	0,04
Среднее давление в анальном канале при волевом сокращении, мм рт. ст. (норма 76,6±8,9)	94 (83; 125)	131 (104,5; 139,5)	0,03
Максимальное давление в анальном канале при волевом сокращении, мм рт. ст. (норма 137,1±12,6)	193 (182; 204,6)	185 (170; 216)	0,78

* Mann - Whitney U-test

Полученные данные свидетельствуют о том, что при применении эвагинационной мукозэктомии прямой кишки анатомические структуры запирающего аппарата прямой кишки страдают в большей степени, чем при использовании трансанальной мукозэктомии. Это, по-видимому, обусловлено перерастяжением анального сфинктера во время эвагинации

прямой кишки на промежность. Однако, необходимо отметить, что из 21 обследованного пациента с выполненной эвагинационной мукозэктомией стойкие признаки анальной инконтиненции были зарегистрированы лишь у двух. У остальных, несмотря на некоторое снижение показателей профилометрии, клинических признаков недостаточности анального сфинктера не было.

При помощи опросника SF-36 было проведено анкетирование пациентов и изучение уровня их качества жизни.

Таблица 13. Оценка уровня качества жизни (SF-36) больных до начала хирургического лечения САТК и через 3 месяца после закрытия илеостомы.

Шкалы	Сроки анкетирования		P*
	До начала хирургического лечения	Через 3 месяца после закрытия илеостомы	
GH	67,57±18,06	61,67±15,35	0,052
PF	91,08±12,3	83,21±20,54	0,022
RP	81,37±35,3	65,48 ±40,18	0,082
RE	78,92 ±28,33	70,12±32,49	0,31
SF	49,63±9,22	46,57±14,09	0,11
BP	84,86±21,25	80,07±25,87	0,34
VT	66,08±18,53	65,24±17,39	0,99
MH	62,92±16,52	65,52±17,08	0,17

*W критерий Уилкоксона

Анкетирование проводилось перед операцией с формированием тонкокишечного резервуара, через 3 и 12 месяцев после закрытия превентивной илеостомы (Табл. 13, 14). Через 3 месяца после закрытия превентивной илеостомы статистически достоверное снижение качества жизни отмечено только по шкале PF (Физическое функционирование), $91,08 \pm 12,3$ баллов до начала хирургического лечения против $83,21 \pm 20,54$ баллов после закрытия илеостомы ($p=0,002$). По всем остальным шкалам достоверных различий в оценке уровня качества жизни не выявлено.

Таблица 14. Оценка уровня качества жизни (SF-36) больных до начала хирургического лечения САТК и через 12 месяцев после закрытия илеостомы.

Шкалы	Сроки анкетирования		Р*
	До начала хирургического лечения	Через 12 месяца после закрытия илеостомы	
GH	$67,57 \pm 18,06$	$66,5 \pm 17,21$	0,41
PF	$91,08 \pm 12,3$	$92,21 \pm 10,25$	0,89
RP	$81,37 \pm 35,3$	$76,88 \pm 34,15$	0,59
RE	$78,92 \pm 28,33$	$82,65 \pm 27,01$	0,36
SF	$49,63 \pm 9,22$	$47,9 \pm 7,31$	0,19
BP	$84,86 \pm 21,25$	$87,0 \pm 19,98$	0,356
VT	$66,08 \pm 18,53$	$71,13 \pm 15,34$	0,07
MH	$62,92 \pm 16,52$	$72,2 \pm 16,43$	0,001

*W критерий Уилкоксона

Через 12 месяцев после закрытия превентивной илеостомы выявлено достоверное улучшение качества жизни по шкале МН (Психическое здоровье), $62,92 \pm 16,52$ баллов до начала хирургического лечения САТК против $72,2 \pm 16,43$ баллов после закрытия илеостомы ($p=0,001$).

Эти данные вполне объяснимы. Больные в исследуемой группе успешно перенесли достаточно сложное и длительное лечение, которое большинству из них позволило избежать развитие рака толстой кишки. Несмотря на изменение функционирования ЖКТ они настроены оптимистично. По остальным шкалам достоверных различий в оценке уровня качества жизни до начала хирургического лечения и через 12 месяцев после закрытия илеостомы не выявлено.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что несмотря на проведенное хирургическое лечение с удалением толстой кишки, качество жизни больных САТК, оперированных с применением нового метода, практически не пострадало. Только у 5 (9,4%) пациентов качество жизни ухудшилось в отдаленные сроки после операции, что было связано с объективными причинами (синдром короткой кишки, дисбиотические нарушения микрофлоры кишечного биотопа, хронический панкреатит). Именно неблагоприятные функциональные результаты стали причиной снижения качества жизни у этих больных. Еще у 2 больных была констатирована неэффективность резервуара в результате, в одном случае хронической рецидивирующей стриктуры РРА, и в другом случае в результате возникновения свища резервуара гнойными полостями, которые дренировались во влагалище.

Шесть женщин молодого детородного возраста планировали беременность. У четырех из них беременность наступила в результате естественного оплодотворения и они перенесли успешные роды.

Исследование дефекофлоуметрия произведена 33/53 (62,3%) пациентам через 12 месяцев после закрытия илеостомы. При выполнении этого исследования нами оценивались следующие параметры: число моментов опорожнения кишки, длительности дефекации и остаточный объем крахмала в резервуаре.

Проведенное исследование показало, что у 24/33 (72,7%) пациентов имелось одно- или двухмоментное опорожнение прямой кишки и тонкокишечного резервуара в течение 20 секунд, что соответствовало норме (Рис. 45). У остальных 9/33 (27,3%) пациентов констатирована многомоментная дефекация. При этом, полное время дефекации колебалось от 38 до 180 секунд (Рис. 46).

Остаточный объем у людей с сохраненной толстой кишкой в норме не должен превышать 15%. В исследуемой группе остаточный объем не превышал 15% у 19/33 (57,6%) пациентов. У остальных 14/33 (42,4%) пациентов этот показатель был от 16% до 38,8%. Следует отметить, что этот параметр не зависел от полного времени дефекации и числа моментов дефекации. Данное исследование позволило установить, что в исследуемой группе пациентов отсутствовали значимые нарушения эвакуаторной функции тонкокишечного резервуара и сохраненной части прямой кишки.

Таким образом, предложенный метод хирургического лечения САТК продемонстрировал возможность клеточной реконструкции слизистой оболочки прямой кишки после мукозэктомии и отсутствие роста аденоматозных полипов в ближайшие годы после операции. Метод позволил добиться хороших непосредственных и отдаленных результатов лечения. Достигнуты хорошие функциональные результаты и отсутствие значимого снижения уровня качества жизни оперированных.

ВЫВОДЫ

1. Разработанный метод хирургического лечения САТК продемонстрировал высокую эффективность, возможность реконструкции слизистой оболочки в сохраненной части прямой кишки после мукозэктомии. При наблюдении за больными САТК с реконструированной слизистой оболочкой прямой кишки рост аденоматозных полипов не отмечен ни в одном случае (медиана наблюдения – 44,3 месяца).
2. Трансплантация суммарной культуры фетальных клеток эпителиального происхождения и мезенхимы различного происхождения в демукозировавшую прямую кишку возможна, она не сопровождается синдромом отторжения, воспалительными и аллергическими реакциями организма пациентов и не оказывает отрицательного влияния на течение послеоперационного периода.
3. Эндоскопические исследования установили, что клеточная трансплантация приводит к полному формированию слизистой оболочки в прямой кишке через 4 недели после операции у 77,2% пациентов, через 8-12 недель после операции - у 22,8% пациентов. Первые признаки формирования слизистой оболочки в демукозированной прямой кишке без применения клеточной трансплантации по эндоскопическим признакам определяются только через 12 недель после мукозэктомии.
4. Морфологические исследования показали, что формирование слизистой оболочки в демукозированной прямой кишке быстрее происходит в группе больных с применением клеточной трансплантации по сравнению с группой пациентов без ее применения. Так, через 1 месяц после операции выраженность некроза в основной группе была в 2,5 раза меньше, а формирование грануляционной ткани в 1,3 раза больше по сравнению с

контрольной группой ($p = 0,0001$). Через 1 месяц после операции выраженность эпителиальной ткани составила 2,4 балла в основной группе, в контрольной группе – 0 ($p = 0,0001$), через 3 месяца в основной группе - 5,1 балла, в контрольной группе - 2,4 балла ($p = 0,0001$). Через 5 месяцев после операции степень выраженности фиброза в 2,4 раза была выше в группе пациентов без применения клеточной трансплантации ($p = 0,0001$.)

5. Иммуногистохимические исследования продемонстрировали, что при применении клеточной реконструкции слизистой оболочки на ранних сроках после операции индекс пролиферации по Ki67 составил 90,3% в эпителии, в контрольной группе, без применения клеточной трансплантации - 0% ($p = 0,0001$). Эти показатели выравнивались только через 3 месяца после операции. Репарация слизистой оболочки прямой кишки среди группы пациентов с применением клеточной трансплантации происходит при участии клеток с признаками стволовых клеток, о чем свидетельствует экспрессия Oct4, Vim, CD34 и CD117. Количество этих клеток статистически достоверно значительно больше определялось в группе с применением клеточных технологий, чем при мукозэктомии без применения клеточной реконструкции.
6. Предложенный новый метод хирургического лечения САТК с использованием клеточной биотехнологии позволил добиться хороших непосредственных результатов лечения. Ранние послеоперационные осложнения развились у 16/57 (28 %) пациентов. Однако, только у 2/57 (3,5%) больных развились осложнения, соответствующие III степени сложности по Clavien-Dindo, а частота несостоятельности тонкокишечного резервуара составила лишь 3,5%. Несостоятельности резервуароректального анастомоза не было. В отдаленные сроки после операции неэффективность резервуара диагностирована у 2/53 (3,8%) пациентов.

7. Разработанный метод мукозэктомии прямой кишки с ее эвагинацией на промежность является более предпочтительным по сравнению с трансанальной мукозэктомией, так как позволяет выполнить ее без оставления резидуальных участков слизистой оболочки. Выявленное снижение показателей профилометрии при этом способе мукозэктомии не проявляется клинически и не приводит к анальной инконтиненции. Трансанальная мукозэктомия является резервным методом и выполняется в тех случаях, когда не удастся осуществить эвагинацию прямой кишки на промежность.
8. Хорошие функциональные результаты (приемлемая частота дефекации, отсутствие признаков анальной инконтиненции и ночной дефекации) отмечены у 48/53 (90,6 %) больных. Через 12 месяцев после закрытия илеостомы выявлено улучшение качества жизни по шкале МН (Психическое здоровье), $62,92 \pm 16,52$ баллов до начала хирургического лечения САТК против $72,2 \pm 16,43$ баллов после закрытия илеостомы ($p=0,001$). По остальным шкалам достоверных различий в оценке уровня качества жизни до начала хирургического лечения и через 12 месяцев после закрытия илеостомы не выявлено.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В хирургическом лечении САТК при отсутствии противопоказаний следует отдавать предпочтение операции с формированием тонкокишечного резервуара и сохранением дистального отдела прямой кишки, что улучшает непосредственные и функциональные результаты лечения.
2. Больные САТК нуждаются в детальном предоперационном обследовании с целью диагностики возможной злокачественной трансформации аденоматозных полипов толстой кишки, полипов и

опухолей других отделов ЖКТ, десмоидных опухолей и внекишечных проявлений заболевания.

3. Диагностическая программа больного, страдающего САТК, должна включать генетическое исследование и последующее обследование кровных родственников.
4. При формировании тонкокишечного резервуара целесообразно погружение механического шва культи резервуара в дополнительные полукисетные швы для предотвращения несостоятельности культи резервуара.
5. Необходимо выполнение мукозэктомии сохраненной части прямой кишки, которую предпочтительно выполнять после эвагинации прямой кишки на промежность. Трансанальную мукозэктомию следует рекомендовать выполнять в тех случаях, когда осуществление эвагинации прямой кишки на промежность технически затруднено.
6. Перед закрытием превентивной илеостомы все пациенты нуждаются в детальном обследовании тонкокишечного резервуара, которое должно включать в себя проктографию с двойным контрастированием, эндоскопию и КТ с контрастированием.
7. Все пациенты после проведенного хирургического лечения САТК должны находиться под медицинским наблюдением в специализированных колопроктологических центрах пожизненно для диагностики внекишечных проявлений заболевания, а также для мониторинга состояния тонкокишечного резервуара, сохраненной части прямой кишки и анального канала.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кузьминов А.М. Клеточные биотехнологии в хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки /А.М. Кузьминов, Г.И.

- Воробьев, Г.Т. Сухих, Д.В. Вышегородцев, Л.Л. Капуллер, В.В. Веселов, А.А. Тихонов // Колопроктология. - № 4 (30). – 2009. - С.17-20.
2. Воробьев Г.И. Клеточная трансплантация в хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки / Г.И. Воробьев, А.М. Кузьминов, Д.В. Вышегородцев, Л.Л. Капуллер, Г.Т. Сухих // Клеточные технологии в биологии и медицине. - №4. – 2010. - С. 199-202.
 3. Шельгин Ю.А. Хирургическое лечение семейного аденоматоза толстой кишки с применением клеточной трансплантации / Ю.А. Шельгин, А.М. Кузьминов, Д.В. Вышегородцев, Л.Л. Капуллер, Ю.Ю. Чубаров, С.Б. Власов, Г.Т. Сухих // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2012. - № 11. - С. 32 - 37.
 4. Шельгин Ю.А. Семейный аденоматоз толстой кишки: хирургическое лечение с применением клеточной трансплантации / Ю.А. Шельгин, А.М. Кузьминов, Д.В. Вышегородцев, Л.Л. Капуллер, Г.Т. Сухих // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. - 2012. - №6. – С. 53-58.
 5. Кузьминов А.М. Оценка качества жизни больных семейным аденоматозом толстой кишки, перенесших операции с сохранением анальной дефекации / А.М. Кузьминов, Ю.Ю. Чубаров, Л.Ф. Подмаренкова, Д.В. Вышегородцев // Колопроктология. - 2012. - № 4 (42).- С. 22-26.
 6. Коган Е.А. Морфологические аспекты клеточной реконструкции слизистой оболочки прямой кишки при хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки / Е.А. Коган, Д.В. Вышегородцев, Н.М. Файзуллина, Т.А. Демура, А.М. Кузьминов, Ю.А. Шельгин, Г.Т. Сухих // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. - 2013. - Т.23. - №6. - С.73-79.

7. Коган Е.А. Клеточная реконструкция слизистой оболочки прямой кишки у больных семейным аденоматозом толстой кишки: эндоскопия, морфология, иммуногистохимия / Е.А. Коган, Д.В. Вышегородцев, Н.М. Файзуллина, Т.А. Демура, А.М. Кузьминов, Ю.А. Шельгин, Г.Т. Сухих // Клеточные технологии в биологии и медицине. - 2014. - № 2. - С. 103-109.
8. Шельгин Ю.А. Хирургическое лечение семейного аденоматоза толстой кишки с клеточной реконструкцией слизистой оболочки прямой кишки / Ю.А. Шельгин, А.М. Кузьминов, Д.В. Вышегородцев, С.Б. Власов, Г.Т. Сухих // Анналы хирургии. – 2017. - 22 (2). – С. 104-110.
9. Шельгин Ю.А. Злокачественные опухоли тела матки, головного мозга, щитовидной железы в семье с аденоматозным полипозом / Ю.А. Шельгин, А.А. Потапов, А.М. Кузьминов, Д.В. Вышегородцев, Н.А. Мурусидзе, Д.А. Чичеватов, Е.Е. Пономарева, О.А. Майновская, В.П. Шубин, А.С. Цуканов // Колопроктология. – 2018. - №1 (63). – С. 69-73.
10. Вышегородцев Д.В. Клеточная реконструкция слизистой оболочки прямой кишки при хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки: 12 лет после первого опыта внедрения в клиническую практику / Д.В. Вышегородцев, А.М. Кузьминов, С.И. Ачкасов, Е.А. Коган, В.Ю. Королик, Г.Т. Сухих // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. – 2019. – 29 (4). – С. 60-65.

ИЗОБРЕТЕНИЯ И ПОЛЕЗНЫЕ МОДЕЛИ

1. Способ лечения семейного аденоматоза толстой кишки. Патент на изобретение № 2402983. Воробьев Г.И., Сухих Г.Т., Кузьминов А.М., Вышегородцев Д.В.
2. Способ сохранения естественного кишечного пассажа у больных семейным аденоматозом толстой кишки после колэктомии. Патент на

изобретение № 2442543. Воробьев Г.И., Сухих Г.Т., Кузьминов А.М., Вышегородцев Д.В.

3. Способ формирования резервуароректального анастомоза при хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки. Патент на изобретение № 2692986. Фролов С.А., Кузьминов А.М., Вышегородцев Д.В., Минбаев Ш.Т., Мухин И.А.
4. Способ отсроченной мукозэктомии дистальной части прямой кишки при хирургическом лечении семейного аденоматоза толстой кишки. Патент на изобретение № 2696956. Фролов С.А., Кузьминов А.М., Вышегородцев Д.В., Власов С.Б., Веселов В.В., Королик В.Ю., Мухин И.А.