

*На правах рукописи*

**Лукманов Мурад Ильгизович**

**ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВА ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ  
В БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО  
ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.17 - хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Уфа – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:** **Мажит Ахметович Нартайлаков,**  
доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Мерзликин Николай Васильевич,** доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Анисимов Андрей Юрьевич,** доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой скорой медицинской помощи, медицины катастроф и мобилизационной подготовки здравоохранения Казанской государственной медицинской академии – Филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Институт хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «    » \_\_\_\_\_ 2018 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д208.006.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ([http://www.bashgmu.ru/science\\_and\\_innovation/dissertatsionnyysovet/dissertatsii](http://www.bashgmu.ru/science_and_innovation/dissertatsionnyysovet/dissertatsii)) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Одной из самых распространенных паразитарных инвазий печени, встречающихся в хирургической практике, является эхинококкоз (Нартайлаков М.А. и др., 2006; Мерзликин Н.В. и др., 2013). Ежегодно в мире болеет эхинококкозом около трех миллионов человек (Martel G. et al., 2014; Raimkulov K.M. et al., 2015). По данным Роспотребнадзора в Российской Федерации (2016) показатель зарегистрированной заболеваемости эхинококкозом составляет в среднем 0,35 на 100000 населения. Высокий показатель заболеваемости эхинококкозом населения регистрируется на Северном Кавказе, Сибири, Южном Урале, в том числе в Республике Башкортостан (Гумеров А.А. и др., 2010; Нартайлаков М.А. и др., 2015; Пантелеев В.С. и др., 2016; Шангареева Р.Х. и др., 2017).

Это тяжелое заболевание может осложниться развитием рецидивных кист. Повторные хирургические вмешательства при эхинококкозе отличаются методически и технически значительной сложностью (Махмадов Ф.И. и др., 2010; Вишневский В.А. и др., 2011). Широкий диапазон частоты рецидивов (3-54%) в разных лечебных учреждениях обусловлен множеством факторов, в том числе биологией возбудителя, качеством профилактики и лечения. До настоящего времени отсутствует единство мнений по вопросам, касающимся этиологии (метастатическая, имплантационная, резидуальная, реинвазивная) рецидива (Ахмедов И.Г., 2015; Ветшев П.С. и др., 2015). Достоверного метода определения природы происхождения рецидивных кист на сегодняшний день еще не разработано. Установление же причины развития рецидива будет способствовать правильному выбору тактики хирургического лечения (Назыров Ф.Г. и др., 2011; Чжао А.В., Икрамов Р.З., 2016) и эффективности профилактики благодаря «адресному» воздействию.

В настоящее время широко применяют препарат «альбендазол» для профилактики любых рецидивов и лечения ранних этапов развития эхинококкоза.

Антигельминтная эффективность альбендазола доказана. Однако, химиотерапия альбендазолом не у всех людей одинаково успешна и причины этого еще недостаточно ясны. Актуальность проблемы рецидивов эхинококкоза обусловлена еще и тем, что до сих пор нет единства во мнениях по таким важным вопросам, как доза, длительность и количество курсов химиотерапии альбендазолом. Все вышеуказанное явилось основанием для планирования и выполнения настоящего исследования.

**Цель исследования.** Разработка мероприятий по улучшению профилактики и лечения рецидивов эхинококкоза печени в ближайшие и отдаленные сроки после хирургического лечения.

### **Задачи исследования**

1. На основе ретроспективного анализа клинического материала изучить частоту развития рецидива эхинококкоза печени в ближайшие и отдаленные сроки после хирургического лечения.

2. Провести морфофизиологические исследования зародышевых элементов, дочерних пузырей в кистах при первичном и рецидивном эхинококкозе печени.

3. Провести сравнительный анализ маркерного гена *cox1 Echinococcus granulosus* первичных и рецидивных эхинококковых кист печени для выявления основных причин развития рецидива.

4. Разработать алгоритм дифференцированного подхода к профилактике и лечению рецидивного эхинококкоза печени альбендазолом.

5. Изучить сравнительные результаты комплексного медикаментозного и хирургического лечения эхинококкоза печени.

**Научная новизна работы.** Впервые разработан и применен способ дифференциации природы происхождения рецидивных кист при эхинококкозе печени (Патент РФ на изобретение №2591807 от 23.06.16). Предложенный способ сравнительного анализа эхинококковых кист позволяет расширить представления о происхождении рецидива.

Впервые разработан способ прогнозирования эффективности химиотерапии эхинококкоза печени альбендазолом (Патент РФ на изобретение №2601902 от 17.10.16). Предложенный способ определения индивидуальных особенностей метаболизма альбендазола позволил обосновать персонализированное назначение дозы препарата больным эхинококкозом печени.

**Теоретическая и практическая значимость.** Внесен вклад в направление дифференцированного подхода к профилактике и лечению рецидивного эхинококкоза печени, основанного на анализе этиопатогенеза. Дальнейшее накопление материала в этом направлении позволяет разработать единую тактику и подходы к лечению этой группы больных.

Разработан и применен алгоритм профилактики рецидива однокамерного эхинококкоза печени после хирургического лечения, который улучшает качество оказания медицинской помощи больным.

**Методология и методы исследования.** Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении литературных данных об этиологии, профилактике и лечении рецидивов эхинококкоза печени. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов работы, выбраны объекты и подобран комплекс современных методов исследования. Объектом исследований стали рецидивы однокамерного эхинококкоза печени у пациентов, поступивших на хирургическое лечение в РБ. В процессе исследования использованы следующие методы: общеклинический, молекулярно-генетический, морфофизиологический. Математическая обработка данных проводилась с применением современных компьютерных технологий.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Большая часть рецидивов эхинококкоза печени диагностируется в ранние сроки после хирургического лечения и чаще в множественной форме, что необходимо учитывать при определении тактики лечебных и профилактических мероприятий.

2. Морфофизиологические (фертильности кист, жизнеспособности протосколексов) и генетические (полиморфизма генов эхинококка) исследования

способствуют выявлению причины развития рецидивных кист после хирургического лечения.

3. Дифференцированный подход к назначению альбендазола, основанный на тестировании полиморфизма гена *CYP1A2*, повышает эффективность профилактики и лечения рецидива эхинококкоза печени.

4. Разработанный алгоритм, основанный на анализе этиопатогенеза рецидива эхинококкоза печени, улучшает качество оказания медицинской помощи этой группе хирургических больных.

**Степень достоверности результатов проведенных исследований.** Комиссия по проверке достоверности первичной документации пришла к выводу, что все материалы диссертационной работы достоверны и получены лично автором. Диссертационное исследование выполнено на достаточном для получения достоверно значимых результатов клиническом материале, что подтверждается таблицами, рисунками, клиническими примерами из историй болезни пациентов. Примененные информативные методы исследований, статистическая обработка данных, обеспечивают надежность и достоверность положений диссертации. Текст диссертации написан лично автором.

**Личный вклад автора.** Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации, состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования. Автором лично проведен анализ результатов обследования пациентов с первичным и рецидивным эхинококкозом печени, морфологические и генетические исследования биологического материала (эхинококковых пузырей). Диссертация является результатом самостоятельной работы автора от обоснования актуальности, постановки цели и задач исследования до проведения статистической обработки, анализа полученных данных, формулировки выводов и практических рекомендаций.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы были представлены на: Международной Пироговской студенческой научной конференции (г. Москва, 2006 г.); на 1 съезде хирургов Урала (г. Челябинск, 26-27 ноября 2015 г.); XII Съезде хирургов России (г. Ростов-на-Дону, 5-10 октября

2015 г.); XXII Международном конгрессе ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ (г. Ташкент, 7-9 сентября 2015 г.); II Медицинском форуме «Неделя здравоохранения в РБ» (г. Уфа, 2017 г.); 82-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых Республики Башкортостан с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (г. Уфа, 2017 г.); доложены и обсуждены на научно-методических совещаниях кафедры общей хирургии с курсом лучевой диагностики ИДПО (г. Уфа, 2015 г.; 2016 г.; 2017 г.), проблемной комиссии «Хирургические болезни» и межкафедральном заседании ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (г. Уфа, 2017 г.).

**Публикации по материалам диссертации.** По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 публикации в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 статьи входят в базу Scopus, получено 2 патента на изобретение.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Разработанные способы: 1) дифференциации природы происхождения рецидивных кист при эхинококкозе и 2) прогнозирования эффективности химиотерапии эхинококкоза печени альбендазолом, внедрены в практику отделения абдоминальной хирургии ГБУЗ Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова, г. Уфа.

Разработанные практические рекомендации используются в обучении студентов, врачей-интернов, ординаторов и аспирантов на кафедре общей хирургии с курсом лучевой диагностики ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, характеризующей материалы и методы исследования, 3-х глав с описанием собственных исследований и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 14 таблицами и 24 рисунками. Библиографический указатель содержит 215 источников, из них 105 отечественных, 110 иностранных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материал, объем и методы исследований.** На первом этапе работы проведено ретроспективное исследование клинического материала Республиканского центра хирургической гепатологии РБ (РЦХГ) на базе Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова (Уфа) за 1998 – 2012 годы. Объем наблюдения составил 300 больных эхинококкозом печени, взятых методом случайного отбора. Материалами исследования служили сведения полученные из архива, путем выкопировки информации из медицинских карт стационарного больного (ф.003/у). Все пациенты исследуемой выборки поступали из районов и городов РБ. Среди пациентов мужчин было 172 (57,3%), женщин - 128 (42,7%). У 60,7% больных эхинококкозом диагностировалась солитарная форма поражения, среди них у мужчин 31,3% и у женщин 29,3% (таблица 1).

Таблица 1 - Распределение больных (n=300) эхинококкозом печени мужчин и женщин по количеству эхинококковых кист

Количество кист	Мужчины абс (%)	Женщины абс (%)	Всего абс (%)
Солитарные кисты в печени	94 (31,3)	88 (29,3)	182 (60,7)
2 или более кист, среди них:	78 (26,0)	40 (13,4)	118 (39,3)
• только в печени	55 (18,3)	19 (6,3)	74 (24,6)
• в печени и других органах брюшной полости	23 (7,7)	21 (7,1)	44 (14,7)
Итого	172 (57,3)	128 (42,7)	300 (100)

2 и более кист в печени встречались у 26,0% мужчин и у 13,4% женщин. Эхинококковые кисты локализовались в правой доле печени у 224 (74,6%) и в левой – у 14 (4,7%). В обеих долях печени кисты были выявлены у 32 (10,7%) пациентов. Наибольшее число кист локализовалось в VI, VII, VIII сегментах печени (50,3%). Осложненные формы эхинококкоза печени диагностировались в 52 (17,3%) случаях. Среди осложнений чаще встречалось нагноение кисты (11,0%). У 11 (3,7%) пациентов наблюдалось обызвествление фиброзной капсулы и у 8 (2,6%) - прорыв кисты. Первичный эхинококкоз был у 242 (80,7%) больных



и у 58 (19,3%) пациентов - рецидив заболевания после хирургического лечения. В основном (82,3%) выполнялись органосохраняющие операции.

На *втором* этапе работы проведено проспективное исследование клинического материала за 2013 – 2016 годы по медицинским картам стационарного больного РЦХГ путем выкопировки информации и собственным наблюдениям. Объем исследования составил 164 больных эхинококкозом печени, взятых методом случайного отбора. *Критерии включения в исследование:* добровольное согласие больных на участие в клиническом исследовании; возраст пациентов 18 лет и старше; размеры эхинококковых кист более 4 см; по осложнениям: осложненные и неосложненные кисты; по лечению: все пациенты, подвергнутые хирургическому вмешательству; информированное согласие пациентов на изменение схемы лечения альбендазолом в послеоперационном периоде в зависимости от молекулярно-генетического исследования; информирование пациентов о возможных побочных действиях альбендазола. *Критерии исключения:* отказ больных от участия в клиническом исследовании; дети и подростки до 18 лет; размеры эхинококковых кист менее 4 см; оперированы в других медицинских учреждениях; отказ больных от оперативного лечения.

Среди анализируемых случаев заболевания эхинококкозом печени пациентов мужского пола было 77 (47,0%), женского - 87 (53,0%). Возраст пациентов составлял от 18 до 73 лет, средний возраст  $39,2 \pm 8,4$  лет. У 28 (17,1%) больных был выставлен диагноз рецидивный эхинококкоз печени (РЭП) и у 136 – первичный эхинококкоз печени (ПЭП). У 75 (55,1%) пациентов с ПЭП была обнаружена солитарная киста в печени (таблица 2).

Таблица 2 - Распределение больных (n=164) с первичным и рецидивным эхинококкозом печени по количеству кист

Количество кист	ПЭП абс (%)	РЭП абс (%)	Всего больных абс (%)
Солитарные кисты в печени	75 (55,1)	5 (17,9)	80 (48,8)
2 или более кист, среди них:	61 (44,9)	23 (82,1)	84 (51,2)
• <i>только в печени</i>	45 (33,1)	12 (42,8)	57 (34,7)

• в печени и других органах брюшной полости	16 (11,8)	11 (39,3)	27 (16,5)
Итого	136 (100)	28 (100)	164 (100)

Множественные кисты в печени и других органах брюшной полости обнаруживались у 84 (51,2%) больных эхинококкозом, в том числе у 23 пациентов с РЭП. Правая доля печени была поражена у 104 (63,4%) больных эхинококкозом печени, левая - у 17 (10,4%) пациентов. Поражение обеих долей печени наблюдалось у 16 (9,8%) больных. У 16,4% пациентов наблюдалось сочетанное поражение печени и брюшной полости.

На *третьем* этапе работы исследовали эхинококковые пузыри, выделенные во время оперативного вмешательства у пациентов, поступавших в РЦХГ за 2013-2016 гг. Для проведения работы была собрана коллекция из 35 пузырей. Среди них 17 получены от пациентов, оперированных по поводу рецидивного эхинококкоза печени. Определяли фертильность кист, для этого изучали их внутреннее содержимое: наличие протосколексов, выводковых капсул. Жизнеспособность протосколексов исследовали стандартным методом путем окрашивания 0,1% эозином, после чего исследовали под микроскопом (согласно рекомендациям Журавец А.К., 2004; Аничкин В.В. и др., 2013) при увеличении  $\times 400$  -  $\times 1500$  на предметном стекле. Материалом для молекулярно-генетических исследований служили образцы ДНК, выделенные из клеток герминативной оболочки и протосколексов (18 кист у больных с первичным эхинококкозом и 3 – у пациентов с РЭП) стандартным фенол-хлороформным методом Sambrook J. et al. (1987). В качестве маркера использовали фрагмент митохондриального гена *cox1*, кодирующего субъединицу 1 фермента цитохром-с-оксидазы *E. granulosus*. Для получения фрагментов гена *cox1* применили метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК.

На *четвертом* этапе работы исследовали эффективность профилактики рецидивов эхинококкоза печени альбендазолом у 164 пациентов, поступавших в РЦХГ в 2013-2016 гг. Пациенты были разделены на 2 группы: основную и сравнения. В группу сравнения включены 107 пациентов с эхинококкозом печени,

отказавшиеся от химиопрофилактики, или принявших альбендазол по стандартной схеме: по 10-15 мг/кг веса в сутки в три курса в год по 28 дней с перерывами по 14 дней. У пациентов основной группы (n=57) провели исследование полиморфизма \*1F(C-163A) 1 интрона гена *CYP1A2*. Применили метод анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции синтеза ДНК в стандартных условиях (Sachsa C. et al., 2003). В соответствии с результатами генетического тестирования назначили схему лечения альбендазолом.

На *пятом* этапе провели анализ сроков развития рецидивных кист после хирургического лечения. Исследовали виды оперативных вмешательств, проведенных за 2013-2016 гг. у пациентов с РЭП в зависимости от локализации, размеров, фазы жизнедеятельности кист. Определяли действие альбендазола путем сравнительного анализа доли жизнеспособных протосколексов в материнской и дочерних пузырях рецидивной кисты. Разработали меры по улучшению профилактики и лечения рецидива эхинококкоза печени после хирургического лечения.

Статистическую обработку проводили с использованием персонального компьютера с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel XP. Анализ частот генотипов проводили с использованием пакета статистических программ: "Rows and Collumns". Проверку статистических гипотез проводили путем сравнения полученного уровня значимости (p) с пороговым уровнем  $p < 0,05$ . Для выявления достоверной связи между изучаемыми явлениями использовали критерий соответствия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса. Построение таблиц и рисунков проводили с использованием пакета программ «Microsoft Office 2010».

### **Результаты исследований и их обсуждение**

Проведенное исследование показало, что в исследуемой нами группе пациентов, лица трудоспособного возраста (от 21 до 60 лет) составляли 76,3%, что показывает социальную значимость проблемы эхинококкозов. Исследование на первом этапе работы выявило, что чаще у больных эхинококкозом печени встречалась солитарная форма поражения (60,7%), эхинококковые кисты больше

локализовались в правой доле печени (74,6%), чем в левой (4,7%;  $p=0,005$ ), что согласуется с данными литературы. Частота РЭП составила 19,3% ( $n=58$ ). Среди них 41 (70,7%) развились в ранние сроки (до 12 месяцев) после хирургического лечения.

Проведенное на втором этапе работы аналогичное исследование показало, что правая доля печени была поражена у 104 (63,4%) больных эхинококкозом печени, а левая - у 17 (10,4%). Поражение обеих долей печени наблюдалось у 16 (9,8%) больных. У пациентов с РЭП кисты больших размеров выявляли почти у трети обследованных (32,1%), несмотря на то, что больные уже были насторожены в отношении этого тяжелого заболевания и находились под диспансерным наблюдением.

На первом этапе работы (1998-2012 гг.) выявлено преобладание (60,7%) солитарной формы эхинококкоза печени, а в исследованиях за 2013-2016 гг. чаще (51,2%) у пациентов обнаруживали 2 и более кист в печени. На втором этапе исследований выявлено, что среди пациентов с РЭП по две и более эхинококковых кист были у 23 (82,1%) больных, что существенно чаще, чем у пациентов с ПЭП ( $\chi^2=11,47$ ;  $p=0,002$ ) (рисунок 1).

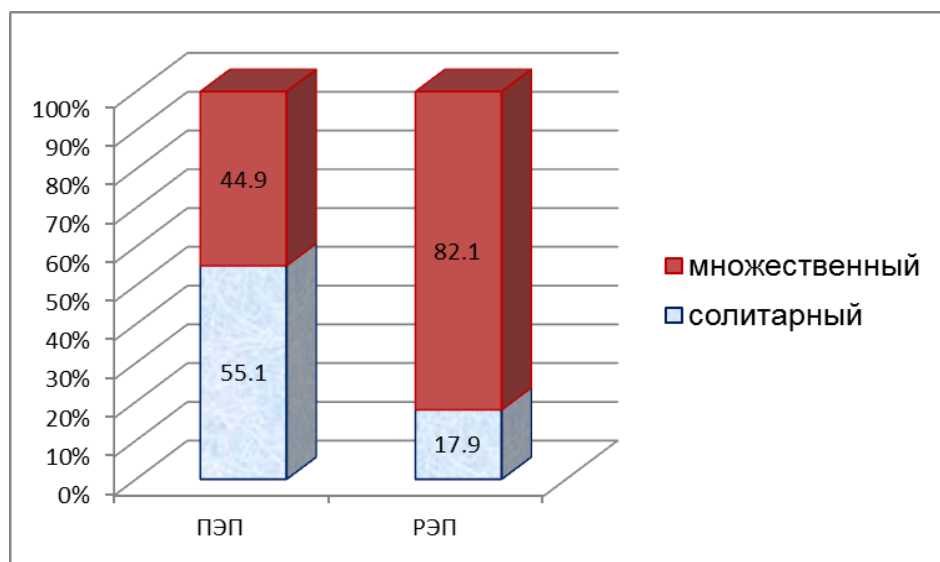


Рисунок 1 – Частота встречаемости солитарного и множественного эхинококкоза печени у пациентов с ПЭП и РЭП

Проведен сравнительный анализ фазы жизнедеятельности кист при первичном ( $n=136$ ) и рецидивном ( $n=28$ ) эхинококкозе печени (по данным

протоколов операции, МРТ и УЗИ) в соответствии с классификацией Гилевича М.Ю. (1987). У пациентов с ПЭП наибольшее количество кист было выявлено во ПБ фазе жизнедеятельности. Количество кист в I, ПА и III фазах частотой существенно не отличались у пациентов с РЭП от ПЭП ( $p=0,76-1,00$ ;  $\chi^2=0,00-0,08$ ). Чаще при РЭП встречались кисты в III фазе жизнедеятельности ( $p>0,05$ ). Выявлено, что 17,8% рецидивных кист на момент обследования имели гнойное содержимое, в 7 (25,0%) случаях обнаружено обызвествление капсулы. Для рецидивного эхинококкоза печени характерным являются множественные поражения и доминирование мёртвых и осложненных кист диаметром до 7,0 см (Курбонов К.М. и др., 2014). Частота рецидивов на II этапе исследований (за 2013 – 2016 гг.) уменьшилась на 2,2% по сравнению с 1998 – 2012 годами (17,1% против 19,3%;  $\chi^2=0,23$ ;  $p=0,64$ ).

На третьем этапе работы проведен сравнительный анализ морфологического строения кист у пациентов с ПЭП ( $n=18$ ) и РЭП ( $n=17$ ). В исследованной выборке все кисты были фертильны (100%). Свободные протосколексы были двух типов: эвагинированные и инвагинированные, с двигательной активностью и без (рисунок 2).

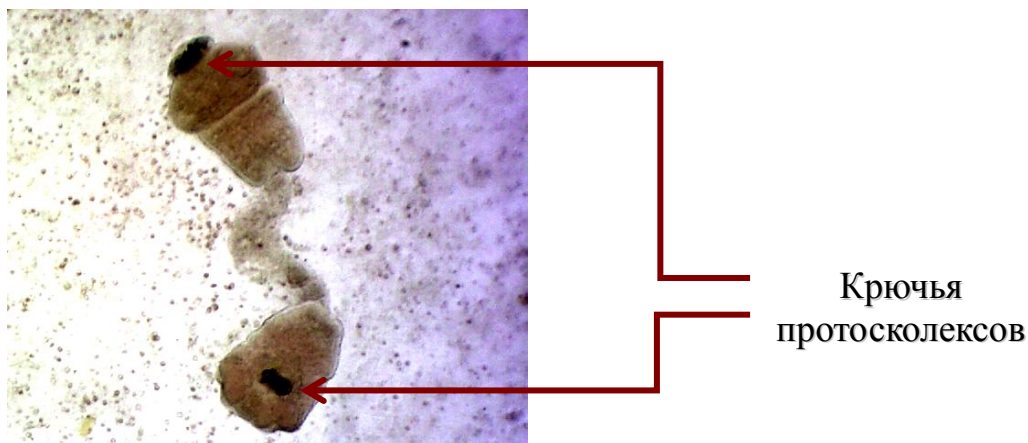


Рисунок 2 - Протосколексы вывернутые (сверху) и ввернутые (снизу), прикрепленные герминативными ножками к фрагменту выводковой капсулы (ув.  $\times 900$ , окраска раствором Люголя)

Длина ввернутых протосколексов составляла 125-145 мкм, длина эвагинированных протосколексов была 170-210 мкм, что согласуется с данными литературы (Журавец А.К., 2004). Было подсчитано процентное отношение

эвагинированных к общему числу протосколексов в кистах. Этот показатель значительно отличался в разных кистах при ПЭП (от 2% – до 34%) и при РЭП (от 4% – до 28%) и выделить существенную разницу между первичными и рецидивными кистами, а также разными рецидивными кистами не представилось возможным. В кистах, выделенных от больных ПЭП процент жизнеспособных протосколексов составлял  $34,8\% \pm 9,3\%$  и соответственно с РЭП  $42,1\% \pm 11,3\%$ . Существенной разницы между первичными и рецидивными кистами, а также между разными рецидивными кистами не выявлено ( $p > 0,05$ ). В 11 (61,1%) исследуемых первичных (из 18) и в 14 (82,3%) рецидивных (из 17) кистах обнаружены дочерние пузыри ( $\chi^2=1,03$ ;  $p=0,31$ ). Таким образом, исследование морфологии значимых отличий между эхинококковыми кистами не выявило.

Дифференциация рецидивных кист (метастатической, резидуальной, имплантационной, реинвазионной) по происхождению имеет значение при выборе метода хирургического лечения и является необходимым для проведения адекватной профилактики. Поскольку метастатические и имплантационные кисты отраждаются из первичной кисты, поэтому вероятность того, что они (первичная и рецидивная кисты) имеют генетическое сходство, высока. Резидуальные и реинвазивные кисты могут иметь сходство с генотипом первичной кисты или нет. Учитывая генетическую вариабельность эхинококка, нами разработан (и получен патент РФ на изобретение) способ дифференциации разных по происхождению кист, основанный на сравнении ПЦР-продуктов маркерного фрагмента гена *cox1* первичной кисты с рецидивной путем использования разных праймеров - №1 и №2 (Буйдаков В.М. и др., 2010; Bowles J., 1993). Этим способом провели анализ эхинококковых пузырей, полученных во время операции у 18 больных с ПЭП. После применения в ПЦР праймеров №1 получили амплифицированные фрагменты ДНК от всех пузырей. Далее эти образцы ДНК подвергли ПЦР, используя праймеры №2, и обнаружили амплификаты только от 11 из них. Следовательно, эти 11 кист имели «нормальный» генотип, а другие 7 – генетически отличающийся. У 3 пациентов (среди тех же 18 больных с ПЭП) развился РЭП. После операции эти рецидивные кисты были взяты на ПЦР-анализ

и выявлено, что кисты у 2 пациентов имеют генетическое отличие от первичной кисты, а значит, и разную природу происхождения. На основании этих результатов и данных анамнеза (сроков развития кисты) установили, что рецидив имеет резидуальную причину. У одного пациента рецидивная киста имела генетическое сходство с первичной, поэтому могла иметь любую этиологию.

На четвертом этапе работы нами разработан (и получен патент РФ на изобретение) способ прогнозирования эффективности химиотерапии эхинококкоза печени альбендазолом. Учитывали данные литературы о том, что в биотрансформации альбендазол-сульфоксида участвует изоформа цитохрома P450 - CYP1A2, а полиморфизм \*1F(C-163A) кодирующего его гена CYP1A2 имеет аллели (A и C), существенно влияющие на каталитическую активность (Кукес В.Г., Сычева Д.А., 2015; Marques, M.P. et al., 2002; Sachse C. et al., 2003). Генотип AA - соответствует фенотипу «быстрого» (ultraextensive metabolizers, UM) метаболизма. Генотипы CC и AC (поскольку A аллель гена является рецессивным) - определяют нормальную скорость метаболизма (extensive metabolizers, EM). Проведенный анализ показал, что в основной группе больных носители AA составляли 21 (36,8%), AC – 19 (33,4%), CC – 17 (29,8%). У лиц, имеющих генотип AA и «быстрый» фенотип - UM, альбендазол-сульфоксид быстро метаболизируется в альбендазол-сульфон и оказывает непродолжительное терапевтическое действие. Лицам с таким генотипом рекомендовали химиотерапию в максимально допустимой суточной дозе – 20 мг/кг веса в сутки. Пациентам с генотипом CC и AC назначили профилактику рецидива в стандартной дозе 10-15 мг/кг веса. Через 0,5-2,5 года провели аналогичный анализ и выявили, что в группе сравнения частота рецидива была больше (у 24 пациентов из 107), чем в основной (у 4 пациентов из 57) группе ( $\chi^2=5,20$ ;  $p=0,02$ ). На основании полученных данных разработали алгоритм прогнозирования эффективности химиотерапии эхинококкоза печени альбендазолом, включающий 3 этапа. На первом этапе проводят обследование с использованием ультразвуковой диагностики, МРТ и серологических методов. При обнаружении кисты на втором этапе проводится стандартная предоперационная подготовка и

молекулярно-генетическое исследование полиморфизма \*1F(C-163A) гена *CYP1A2* методом ПЦР-ПДРФ анализа (рисунок 3).

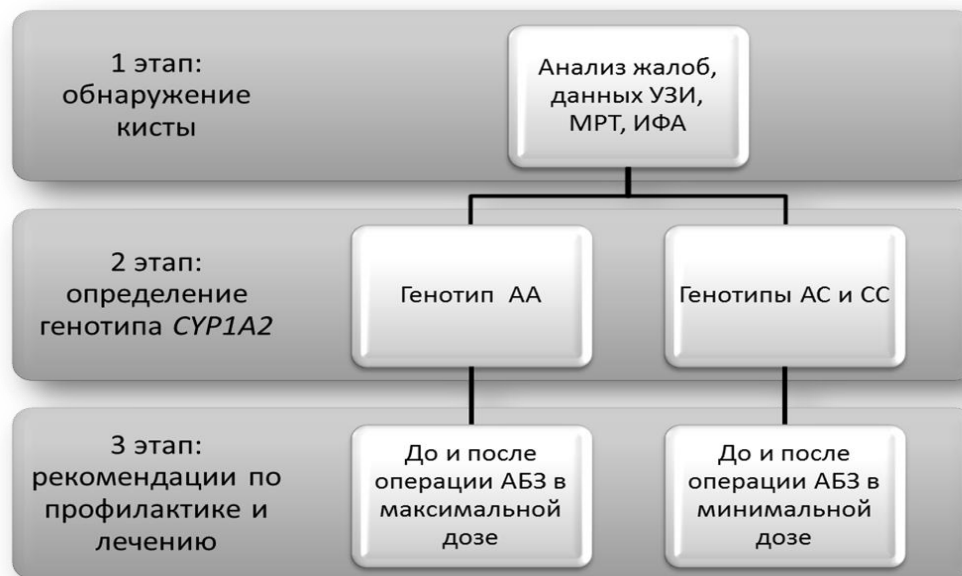


Рисунок 3 – Алгоритм прогнозирования эффективности альбендазола (АБЗ)

На третьем этапе определяется индивидуально доза препарата в пред- и послеоперационном периодах в соответствии с генотипом и диспансерное наблюдение (с УЗИ, ИФА контролем и исследованием биохимических показателей функционального состояния печени).

Сроки возникновения РЭП после первичной операции могут быть самыми различными. Ранними считают РЭП в сроки до 3 лет, поздние – развиваются через 3 года после хирургического лечения. Проведен анализ сроков обнаружения рецидивных эхинококковых кист после хирургического лечения у пациентов, поступивших в РЦХГ за 2013 – 2016 годы (рисунок 4).

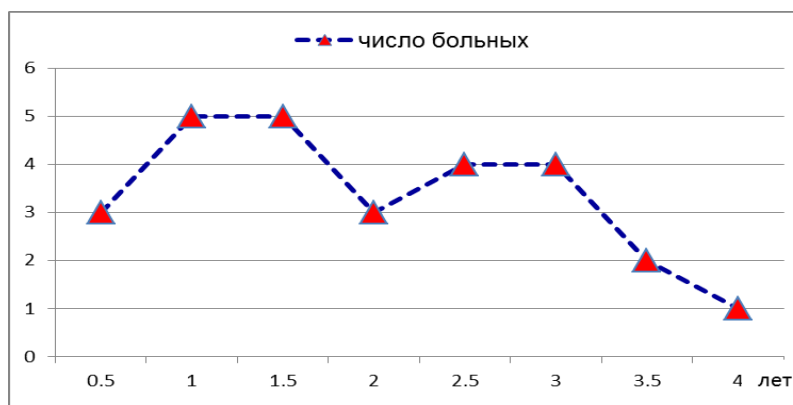


Рисунок 4 - Сроки выявления РЭП (количество лет) у пациентов за 2013–2016 гг.



Всего было проанализировано 28 случаев заболевания РЭП. Как видно из рисунка, большинство РЭП обнаруживали в сроки до 3 лет после ПЭП. Эти данные согласуются с результатами исследований других авторов и объясняются разной этиологией рецидивных кист (Вишневецкий В.А. и др., 2011). Ранние РЭП связывают с резидуальным происхождением, а поздние - с имплантационным, метастатическим или реинвазионным. Такое распределение объясняют быстрым ростом резидуальных и медленным – остальных кист. Проведенный нами анализ показал, что рецидивы до 3 лет после первой операции встречались у 71,4% пациентов, а в сроки 3 или более лет - в 28,6% случаях. Чаще всего РЭП выявляли в первые полтора года 13 (46,4%) после операции. Рецидивы более чем через 3 года после первой операции (поздние) были диагностированы у 4 (14,3%) и ранее 3 лет (ранние) - у 24 (85,7%) пациентов.

Проведен анализ частот встречаемости солитарных, множественных и сочетанных РЭП у больных (n=28), которые оперировались по поводу разных видов ПЭП. Выявлено, что у больных после солитарного ПЭП могли развиваться как солитарный (7,1%), так и множественный (28,6%) и сочетанный (25,0%) РЭП. После множественного ПЭП не развивался солитарный РЭП и количество кист в печени всегда было 2 и больше. После сочетанного ПЭП, чаще, чем другие формы (10,7% против 3,6% и 3,6%), развивался сочетанный РЭП (рисунок 5).

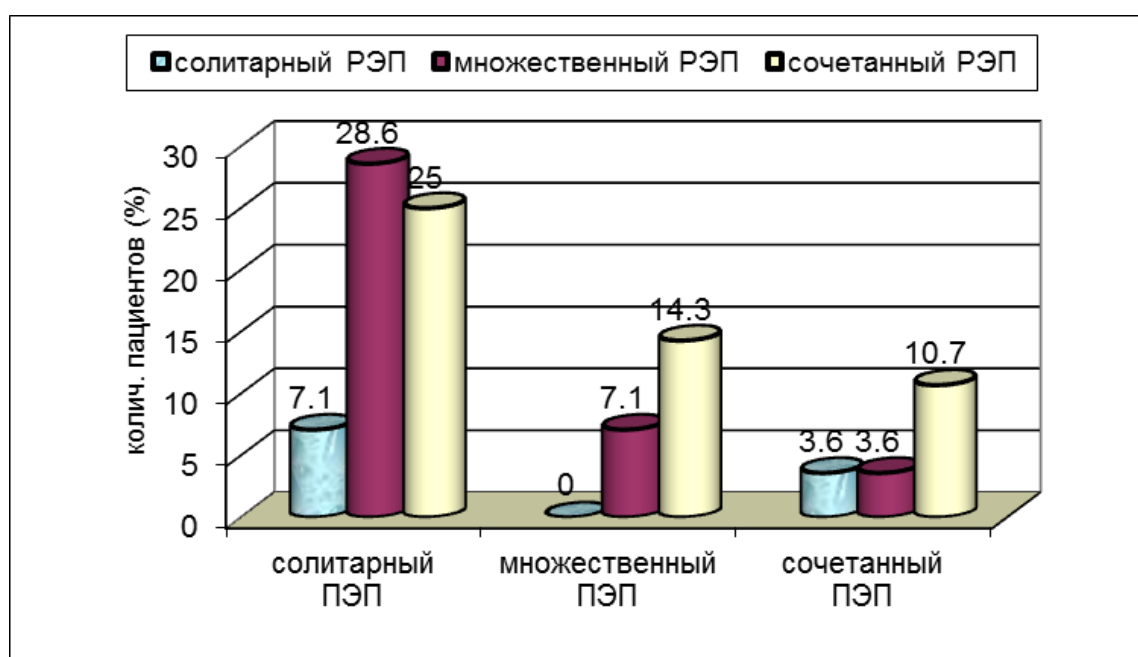


Рисунок 5 - Распределение частот встречаемости (%) солитарных, множественных и сочетанных РЭП у больных разным типом ПЭП

РЭП развивался в 67,9% случаев у пациентов, у которых первичная киста тоже была локализована в печени. Значит, рецидивы чаще ( $p=0,01$ ;  $\chi^2=5,78$ ) развивались в печени, если у больных первичная киста также была в печени. Обращает внимание, что при РЭП часто (39,3%) встречалась сочетанная форма с внепеченочным поражением брюшной полости, что согласуется с данными литературы. Таким образом, клиническая картина РЭП была более тяжелой, чем ПЭП, поскольку чаще встречались множественные формы, а значит, и оперативное вмешательство было более сложным.

Нами в РЦХГ разработана собственная классификация оперативных вмешательств при эхинококкозе печени. В соответствии с ней проведен анализ видов оперативных вмешательств у пациентов с РЭП. Всего были проанализированы 28 протоколов операций. Как показало исследование, у больных при РЭП традиционные органосохраняющие эхинококкэктомии (закрытая эхинококкэктомия без вскрытия хитиновой оболочки или после ее вскрытия; без удаления фиброзной капсулы или с частичной перицистэктомией; без дренирования или с наружным дренированием остаточной полости) составили более трети (39,3%) от всех операций при РЭП. Из них в 2 (7,1%) случаях операции закрытой эхинококкэктомии выполнялись путем полного удаления кисты без ее вскрытия («идеальная»). Они применялись у пациентов с кистами среднего размера, в I фазе жизнедеятельности, неосложненных, краевым расположением в правой доле печени. Эхинококкэктомии со вскрытием хитиновой оболочки и аспирацией содержимого произведены у 9 (32,1%) пациентов. Среди них 2 (7,1%) пациентам (с кистами среднего размера, во II фазе жизнедеятельности, неосложненных, расположением в V и VII сегментах печени) выполнили закрытую эхинококкэктомию. В 7 (25,0%) наблюдениях выполнена эхинококкэктомия со вскрытием хитиновой оболочки, иссечением фиброзной капсулы (частичная перицистэктомия) и последующим дренированием остаточной полости. У этих пациентов были солитарные или

множественные кисты разных размеров, в ПА, ПБ и ПС фазах жизнедеятельности, расположением в правой или левой, или обеих долях печени. У 15 из 28 пациентов с рецидивом заболевания (53,6%) были выполнены радикальные оперативные вмешательства. Эти данные согласуются с мнением многих хирургов о том, что необходимо отдавать предпочтение радикальной хирургии при лечении рецидива эхинококкоза печени (Вишневский В.А. и др., 2013). Резекции печени выполнялись при обнаружении признаков обызвествления фиброзной капсулы и множественных близко расположенных друг к другу кистах. При обнаружении больших и гигантских кист печени, когда закрытие остаточной полости вызывало затруднение, также выполняли резекцию печени. Чаще выполняли атипичную резекцию (14,3%), чем анатомическую (10,7%). Резекции не выполнялись при расположении кист в области ворот печени или крупных сосудов и при интрапаренхиматозной локализации неосложненных малых и средних кист. 7 пациентам с РЭП проведено комбинированное оперативное вмешательство (резекция печени и традиционная эхинококкэктомия). 2 пациентам с РЭП (из 28) выполнено малоинвазивное лапароскопическое оперативное вмешательство. Кисты имели краевое расположение близко к передней брюшной стенке, были неосложненными, средних размеров. Увеличить число лапароскопических эхинококкэктомий при РЭП не представляется возможным ввиду развития массивных спаек после первичной операции.

Провели анализ действия альбендазола на дочерние пузырьки в кистах. Для этого был изучен клинический пример.

**Пример.** Больной Ш., 22 лет, обратился в РЦХГ в 2014 году (история болезни №68694) с жалобами на боли в области правого подреберья. При УЗИ органов брюшной полости в правой доле печени (сегментов V- VII) выявлено 4 объемных образования. Больному выполнено оперативное вмешательство в виде сочетания резекции печени с закрытой эхинококкэктомией. Микроскопически эхинококковая природа кисты была подтверждена. Назначена профилактика рецидива заболевания альбендазолом в дозе 15 мг/кг веса в сутки, 3 курса в год по

28 дней, с перерывом 14 дней. Через 7 месяцев после первичной операции пациент обратился с теми же жалобами. При УЗИ в левой доле печени (сегментов II-IV) выявлены 3 объемных образования. Выполнена повторная операция. Один эхинококковый пузырь и его содержимое были взяты на анализ. Проведено исследование: хитиновая оболочка эхинококкового пузыря имела серовато-белый цвет, непрозрачное содержимое, без нагноения. Внутри кисты обнаружили дочерние пузыри. Провели микроскопический анализ удаленного препарата на наличие в протосколексах известковых телец, характеризующих жизнеспособность. Изучение доли жизнеспособных протосколексов в пузырьной жидкости материнской кисты и в дочерних пузырях у обследуемого больного с РЭП показал на существенную разницу. Значительно больше было зародышей с известковыми тельцами в дочерних пузырьках (45,0% против 10,0%), чем в материнских ( $p=0,03$ ;  $\chi^2=4,51$ ). Эти сведения согласуются с литературными данными о том, что альбендазол мало влияет на зародыши внутри дочерних пузырей (Rinaldi F. et al., 2014). На основании полученных данных можно считать, что случайное повреждение во время операции дочерних пузырей является риском развития рецидива даже у больных, получающих альбендазол. Поэтому можно добавить к числу противопоказаний к лапароскопическим методам и наличие дочерних пузырей в кистах, что согласуется с литературными данными.

Проведенный анализ 28 медицинских карт больных РЭП показал, что 26 (92,8%) из них имели противопоказания к малоинвазивным вмешательствам по причине множественного характера поражения, центральной локализации, больших размеров или осложненного течения.

## **ВЫВОДЫ**

1. Ретроспективный анализ собственного клинического материала показал, что частота рецидива эхинококкоза печени после хирургического лечения составляла в 1998-2012 годах 19,3%, а в 2013-2016 годах снизилась до 17,1% ( $p>0,05$ ). Проспективные исследования показали, что рецидивы заболевания выявлялись чаще в ранние сроки после операции (71,4%), и лишь в 28,6% случаев

– в сроки 3 года и более лет. При этом больных с множественной формой заболевания при рецидивном эхинококкозе печени было существенно больше, чем при первичном ( $\chi^2=11,47$ ;  $p=0,002$ ).

2. Морфофизиологические исследования удаленных во время операции эхинококковых пузырей показали их фертильность в 100% случаев, как при первичном, так и при рецидивном эхинококкозе печени. В то же время показатель жизнеспособности протосколексов в первичных и рецидивных эхинококковых кистах не имел достоверной разницы ( $34,8\pm 9,3\%$  и  $42,1\pm 11,3\%$  соответственно,  $p>0,05$ ), что снижает ценность этого морфофизиологического анализа в прогнозе рецидива эхинококкоза.

3. Использование предложенного нами способа сравнительного анализа маркерного фрагмента гена *cox1* эхинококковых пузырей позволило дифференцировать происхождение рецидивных кист и, соответственно, рекомендовать целенаправленные меры профилактики рецидива эхинококкоза печени.

4. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма \*1F(C-163A) гена *CYP1A2* с использованием ПЦР-ПДРФ анализа у больных эхинококкозом печени позволило выявить наличие в 36,8% случаев генотипа *AA* с фенотипом «быстрого» метаболизера УМ, в 33,4% и 29,8% случаев – генотипов *AC* и *CC* с фенотипом «нормального» метаболизма ЕМ и предложить дифференцированный алгоритм химиопрофилактики рецидивов заболевания.

5. Сравнительная оценка результатов хирургического лечения эхинококкоза печени в 2013-2016 гг. с дифференцированной схемой назначения альбендазола демонстрировала достоверное ( $\chi^2=5,20$ ;  $p=0,02$ ) снижение в 3,2 раза частоты рецидивного эхинококкоза печени.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Комплекс мероприятий по профилактике рецидива эхинококкоза печени должен включать анализ гена *CYP1A2*, для дифференцированного подхода к назначению химиотерапии.

2. Схема профилактики рецидива эхинококкоза печени альбендазолом для лиц с фенотипом «быстрого» метаболизма альбендазола включает максимально допустимую суточную дозу 20 мг/кг веса, а с фенотипом «нормального» метаболизма – стандартную, 10-15 мг/кг веса.

3. В связи с существенной значимостью определения этиологии рецидивных кист при выборе метода лечения необходимо проводить сравнительные исследования генетической variability первичной и рецидивной кист.

4. Сроки диспансерного наблюдения за оперированными больными по поводу эхинококкоза печени необходимо удлинить до 5 лет, поскольку имплантационные и метастатические рецидивы могут развиваться в отдаленные сроки после хирургического лечения.

5. Полученные результаты о роли генетических факторов в развитии рецидивов могут быть использованы для корректировки стандартов медицинской помощи больным эхинококкозом.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лукманов, М.И. Морфология протосколексов *Echinococcus granulosus* / М.И. Лукманов // Вестник Российского государственного медицинского университета. - 2006. - № 2. - С. 392.
2. Проблема гельминтозов человека в Республике Башкортостан / М.И. Лукманов, М.М. Туйгунов, Р.Г. Фазлаев, Г.И. Лукманова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2012. - № 3. – С. 8–11.
3. Лукманов, М.И. Частота встречаемости паразитарных полиинвазий / М.И. Лукманов // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. - 2012. - № 2 (приложение). - С. 257-261.
4. Использование генетического анализа для выявления природы рецидивов эхинококкоза / М.А. Нартайлаков, А.С. Ибадильдин, В.С. Пантелеев, М.И. Лукманов [и др.] // Журнал инфектологии. - 2015. – Т. 7, № 2 (приложение). - С. 70-71.

5. Нартайлаков, М.А. К вопросу о причине возникновения рецидива цистного эхинококкоза печени / М.А. Нартайлаков, М.И. Лукманов // Непрерывное медицинское образование и наука. - 2015. - №3. - С. 25-26.
6. Нартайлаков, М.А. К вопросу о выборе метода хирургического лечения цистного эхинококкоза печени / М.А. Нартайлаков, М.И. Лукманов // Материалы. XII Съезда хирургов России. – Ростов н/Д, 2015. - С. 1644.
7. Нартайлаков, М.А. К вопросу о химиотерапии цистного эхинококкоза / М.А. Нартайлаков, М.И. Лукманов // Актуальные вопросы гепатопанкреатобилиарной хирургии: тезисы докладов XXII международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ. - Ташкент, 2015. – С. 219.
- 8. О профилактике цистного эхинококкоза в Республике Башкортостан / Г.И. Лукманова, М.А. Нартайлаков, Т.Р. Зилькарнаев, С.Р. Габдрахимов, М.И. Лукманов // Гигиена и санитария. - 2015. – Т. 94, № 3. – С. 15-17.**
- 9. Нартайлаков, М.А. К вопросу о профилактике и лечении рецидива эхинококкоза / М.А. Нартайлаков, М.И. Лукманов // Инфекции в хирургии. - 2016. – Т. 14, № 2. – С. 35-38.**
10. Паразитарные поражения печени: альвеококкозы, эхинококкозы / В.С. Пантелеев, М.А. Нартайлаков, Р.Р. Абдеев, С.Р. Габдрахимов, М.И. Лукманов // Клиническая и экспериментальная хирургия. – 2016. – Режим доступа: [www.JECS.ru](http://www.JECS.ru) Дата обращения: 11.01.16.
11. Лукманов, М.И. Профилактика рецидива эхинококкоза печени / М.И. Лукманов // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2017. - № 2 (приложение): Материалы 82-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых «Вопросы теоретической и практической медицины». - С. 1307-1311.

#### **ИЗОБРЕТЕНИЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Способ дифференциации природы происхождения рецидивных кист при цистном эхинококкозе: пат. 2591807 Рос. Федерация: МПК G01N 33/50 / Лукманов М.И., Нартайлаков М.А., Габдрахимов С.Р., Лукманова Г.И.;

заявитель и правообладатель ГБОУ ВПО БГМУ МЗ РФ. - № 2015125859/15, заявл. 29.06.2015; опублик. 20.07.2016, Бюл. № 20. – 6 с.

2. Способ прогнозирования эффективности профилактики альбендазолом послеоперационного рецидива цистного эхинококкоза: пат. 2601902 Рос. Федерация: МПК G01N 33/48 / Нартайлаков М.А., Лукманов М.И., Лукманова Г.И.; заявитель и правообладатель ГБОУ ВПО БГМУ МЗ РФ. - № 2015142288/15, заявл. 05.10.2015; опублик. 10.11.2016, Бюл. № 31. – 7 с.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ТЕКСТЕ**

ИДПО - Институт дополнительного последилового образования  
 ПДРФ – полиморфизм длин рестриционных фрагментов  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 ПЭП – первичный эхинококкоз печени  
 РБ – Республика Башкортостан  
 РКБ – Республиканская клиническая больница  
 РЦХГ - Республиканский центр хирургической гепатологии РБ  
 РЭП – рецидивный эхинококкоз печени  
 УЗИ – ультразвуковое исследование  
 ФГБОУ ВО БГМУ – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Лукманов Мурад Ильгизович**

## **ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВА ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ В БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.17. - хирургия

Автореферат  
 диссертации на соискание ученой степени  
 кандидата медицинских наук

Подписано в печать 12.01.2018 г. Формат 60\*84 1/16  
 Бумага офсетная. Печать ризографическая. Тираж 100 экз. Заказ 038.  
 Гарнитура «TimesNewRoman». Отпечатано в типографии  
 «ПЕЧАТНЫЙ ДОМЪ» ИП ВЕРКО.  
 Объем 1,5 п.л. Уфа, Карла Маркса 12 корп 5/1,  
 т/ф 27-27-600, 27-29-123