

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЛУКМАНОВ МУРАД ИЛЬГИЗОВИЧ

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

14.01.17 - хирургия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор М.А. Нартайлаков

Уфа - 2017

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОДНОКАМЕРНОГО ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	
1.1. Актуальность проблемы рецидивов эхинококкоза в мире и в России.....	10
1.2. Современное представление об этиологии рецидивов эхинококкоза печени.....	12
1.3. Лечение рецидивов однокамерного эхинококкоза печени.....	16
1.4. Профилактика рецидивов эхинококкоза печени.....	23
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ, ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Общая характеристика клинического материала.....	30
2.2. Методы исследований.....	40
2.3. Статистический анализ.....	45
ГЛАВА 3. МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КИСТ ПРИ ПЕРВИЧНОМ И РЕЦИДИВНОМ ЭХИНОКОККОЗЕ ПЕЧЕНИ	
3.1. Локализация, количество, размеры и фаза жизнедеятельности кист у больных первичным и рецидивным эхинококкозом печени.....	47
3.2. Характеристика морфофизиологии кист у больных эхинококкозом печени.....	54
3.3. Дифференциация рецидивных кист на основе молекулярно-генетического исследования гена <i>cox1</i>	57
ГЛАВА 4. ПРОФИЛАКТИКА РЕЦИДИВА ОДНОКАМЕРНОГО ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ	
4.1. Химиопрофилактика рецидива эхинококкоза печени.....	62
4.2. Прогнозирование эффективности химиопрофилактики рецидива эхинококкоза печени.....	69

ГЛАВА 5. ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВОВ ОДНОКАМЕРНОГО ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ В БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

5.1. Частота рецидива эхинококкоза печени в зависимости от сроков обнаружения рецидива после хирургического лечения и особенностей течения первичного эхинококкоза.....	74
5.2. Хирургическое лечение рецидива эхинококкоза печени.....	78
5.3. Мероприятия по улучшению результатов профилактики и лечения рецидивов эхинококкоза печени.....	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	88
ВЫВОДЫ.....	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	100
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	101
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Одной из самых распространенных паразитарных инвазий печени, встречающихся в хирургической практике, является однокамерный эхинококкоз [43, 78, 82, 100]. Ежегодно в мире заболевает эхинококкозом 1-200 больных на 100 000 населения (около трех миллионов человек) [106, 184, 201]. По данным Роспотребнадзора Российской Федерации (2016) до настоящего времени эпидемиологическая ситуация по эхинококкозам в России остается сложной [66]. Высокий показатель заболеваемости эхинококкозом населения регистрируется на Северном Кавказе, Сибири, Южном Урале, в том числе в Республике Башкортостан [67, 71, 74, 102].

Это тяжелое заболевание может осложниться развитием рецидивных кист. Повторные хирургические вмешательства при эхинококкозе отличаются методически и технически значительной сложностью, а в ряде случаев (при множественных и многократных рецидивах) приводят к инвалидности и даже летальному исходу. Широкий диапазон частоты рецидивов (3-54%) в разных лечебных учреждениях обусловлен множеством факторов, в том числе патогенностью возбудителя, качеством профилактики и лечения [110, 180].

До настоящего времени отсутствует единство мнений по вопросам, касающимся этиологии (метастатическая, имплантационная, резидуальная, реинвазивная) рецидива [14, 15, 21, 22]. 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 и эффективности профилактики благодаря «адресному» воздействию.

В настоящее время широко применяют препарат «альбендазол» для профилактики 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 эхинококкоза обусловлена еще и тем, что до сих пор нет единства во мнениях по таким важным вопросам, как доза, длительность и количество курсов химиотерапии, что во многом способствует сдержанному отношению некоторых хирургов к применению альбендазола. Все вышеуказанное явилось основанием для планирования и выполнения настоящего исследования.

Степень изученности и разработанности проблемы

Анализ опубликованных результатов многочисленных исследований показал, что в лечении и профилактике рецидивов эхинококкоза печени в настоящее время применяют [134, 171]:

- при малых (<5 см) неосложненных солитарных кистах - подход «Watch and Wait» («наблюдать и ждать») и, как правило, химиотерапию (альбендазола с празиквантелем);
- средние и большие неосложненные кисты - преимущественно лапароскопической эхинококкэктомией, с до и после операционной химиопрофилактикой рецидивов;
- традиционное хирургическое вмешательство - при больших и гигантских кистах (> 10 см), осложнениях и труднодоступных локализациях;
- при множественных кистах, подозрении на обсеменение зародышевыми элементами эхинококка - радикальные операции.

Но несмотря на совершенствование методов оперативного вмешательства, внедрение новых химических и физических методов воздействия на зародыши паразита, рецидивы эхинококкоза продолжают встречаться в хирургической практике. Данные зарубежных и отечественных публикаций показывают, что среди хирургов до сих пор нет единого мнения в определении этиологии рецидива эхинококкоза. Существует несколько гипотез, объясняющих развитие послеоперационных рецидивных

эхинококковых кист в организме человека, но достоверных способов их дифференциации не предложено.

В настоящее время профилактику рецидива эхинококкоза печени стараются обеспечить химиотерапией до и после операции, радикализмом хирургического вмешательства, которое хоть и гарантирует полноценное удаление зародышевых элементов паразита, но не предупреждает развитие резидуальных кист [104, 180]. Остро стоит проблема недостаточной эффективности профилактики рецидива эхинококкоза перед здравоохранением не только России, но и других стран. Разработка новых способов, улучшающих профилактику рецидивов эхинококкоза, остается по-прежнему актуальной. В настоящее время перспективным направлением становится поиск этиопатогенетических факторов риска развития рецидива эхинококкоза, в том числе и индивидуальных особенностей, что побудило нас исследовать генетические аспекты, влияющие на течение заболевания.

Цель работы

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 собственного 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.

Практическая ценность работы

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 этой группе больных.

Внедрение

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.

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

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.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы были представлены на 1 Международной Пироговской студенческой научной медицинской конференции (г. Москва, 2006); на 1 съезде хирургов Урала, 26-27 ноября (г. Челябинск, 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 (2015; 2016; 2017), проблемной комиссии «Хирургические болезни» и межкафедральных заседаниях ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (г. Уфа, 2017 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 публикации в журналах, рекомендованных ВАК РФ, получено 2 патента на изобретение.

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.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Актуальность проблемы рецидивов однокамерного эхинококкоза в мире и в России

Среди населения мира широко распространен однокамерный (гидатидозный) эхинококкоз, чаще встречающийся в странах Средиземноморья, Средней Азии [116, 145, 211, 212]. Всемирная ежегодная заболеваемость эхинококкозом составляет 1 - 200 на 100 000 населения (около трех миллионов больных) [105, 183, 200]. Случаи заболевания эхинококкозом населения зарегистрированы в 63 субъектах Российской Федерации (РФ), наиболее эндемичны Дальневосточный, Северо-Кавказский и Уральский регионы, на долю которых приходится около 70% всех больных [26, 30, 76, 85] (рисунок 1).

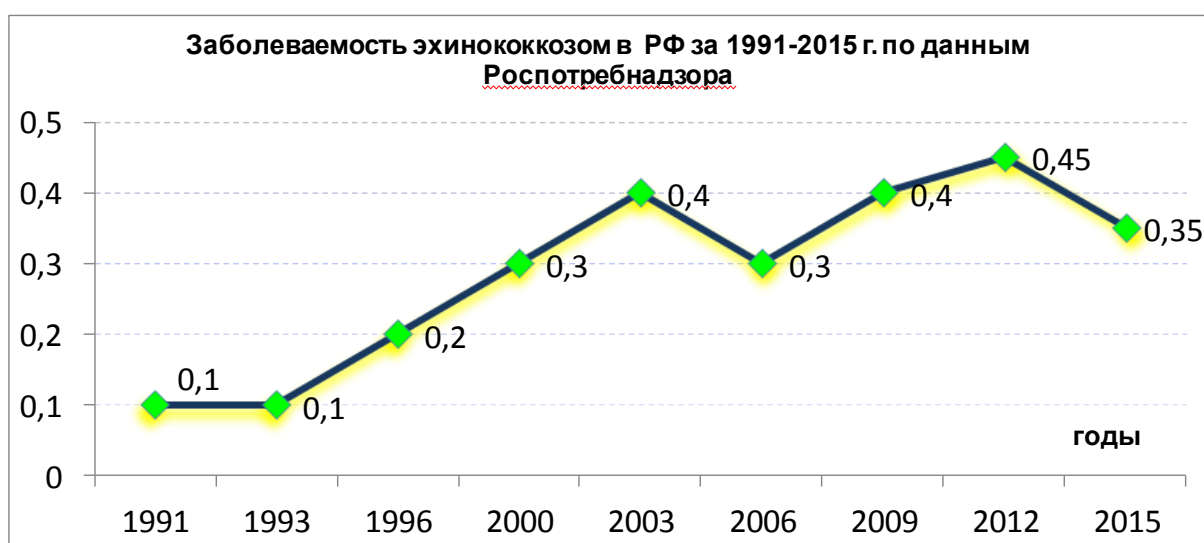


Рисунок 1 – Заболеваемость эхинококкозом в Российской Федерации за 1991 – 2015 годы по данным Роспотребнадзора

Болезнь все чаще стала встречаться в неэндемичных очагах, где врачи не знакомы или малознакомы с основными принципами диагностики эхинококкоза, что нередко приводит к позднему выявлению заболевания и ошибкам в лечении [22, 25, 101, 122].

С 90-х годов прошлого века в РФ заболеваемость людей эхинококкозом стала чаще регистрироваться, в том числе и благодаря расширению возможностей инструментальной диагностики. По данным Роспотребнадзора в среднем по России заболеваемость эхинококкозом составляла в 1991 г. – 0,1 случай на 100 тыс. населения, 0,3 - в 2006 г., 0,4 - в 2010 г. и 0,3 - в 2015 г., а в ряде регионов было зарегистрировано случаев эхинококкоза в 3-5 раз больше, чем за 2010 год [52, 66, 67].

Причинами этого являются ухудшение санитарно-эпидемиологического контроля и диспансеризации в эндемичных районах, возросшая миграция населения [24]. Значительно расширился ареал распространения эхинококкоза среди населения России в северном и восточном направлениях [58, 70, 82, 96]. Наибольший рост заболеваемости эхинококкозом населения наблюдается в Поволжье, Сибири, на Южном Урале, в том числе в Республике Башкортостан (РБ) [40, 61, 68, 100]. Чаще стали регистрироваться случаи заболевания человека в Северном Кавказе, Закавказье и отдельных районах Восточной Азии [31, 43, 44].

Истинную распространенность эхинококкоза трудно оценить из-за высокой доли бессимптомных носителей, которые никогда не обращаются за медицинской помощью [205]. Учитывая, что эпидемиология коррелирует с эпизоотологией, можно предполагать действительную инвазированность населения, по данным ветеринарных отчетов [67, 76, 109, 197]. Иммунологические тесты также не полно отражают показатель зараженности населения, поскольку при кистах 1 фазы жизнедеятельности часто показывают отрицательный результат [40, 163, 172]. Специфические антитела могут сохраняться в сыворотке крови после операции у больных эхинококкозом на протяжении 18 и более лет [38].

Наиболее частой локализацией гидатидных кист являются печень (52 - 76%) и легкие (38 - 69%) [35, 77, 156, 215]. Более часто наблюдается поражение правой доли печени (32 - 58%), и чаще всего VI–VII сегментов [5, 19, 50, 80, 177].

Солитарное поражение печени наблюдается у 40-83% больных, сочетанное у 18-60% (при этом более чем в половине случаев отмечается поражение печени и легких) и множественное - 18-40% [33, 94, 136, 146]. У детей диагностировали изолированное поражение печени в 47% случаев, солитарные кисты в других органах - 81%, множественные - 19% [35]. В последние десятилетия проблема не стала менее актуальной. Многие авторы отмечают неуклонный рост числа больных с множественными поражениями различных органов, частота которых колеблется от 9 до 57% [33, 75]. Выросло число летальных исходов, наблюдается рост осложненных форм [6, 84, 88]. Необходимо учитывать, что операции при нагноении любых кист печени – это сложные хирургические вмешательства [68].

Несмотря на совершенствование методов оперативного вмешательства, внедрение новых химических и физических методов воздействия на зародыши паразита, рецидивы эхинококкоза продолжают встречаться в хирургической практике. Частота рецидивов эхинококкоза колеблется в пределах 12-33%, нередко случаи многократного рецидивирования [98, 164, 180, 196].

1.2 Современное представление об этиологии рецидивов однокамерного эхинококкоза печени

Данные зарубежных и отечественных публикаций показывают, что среди хирургов нет единого мнения в определении этиологии рецидива эхинококкоза. В практическом здравоохранении *рецидивом* называют повторное развитие кист любой этиологии после оперативного лечения первичного эхинококкоза [12, 13].

Согласно литературных данных развитие рецидива эхинококкоза может быть связано с несколькими причинами [165]. По мнению Т.Н. Robinson и соавт. (2005), рецидив неизбежен у 3/4 пациентов через 41 ± 17 месяцев после удаления доминирующей кисты [190]. Возникновение рецидивов Акматов Б.А. (1988), Червинский А.А. (1990) связывают с несовершенством оперативного вмешательства (выбор антипаразитарного агента, способ

обработки полости, метод операции и др.) [25, 89]. В то же время отмечают достаточно высокую частоту рецидивов, несмотря на радикализм применяемых операций [21, 22]. Есть работы демонстрирующие отсутствие прямой зависимости частоты рецидивов от тактико-технических аспектов операции [103]. Выявлена малая зависимость трансформации зародышевых элементов в новые кисты от возраста и пола пациента, факторов специфической и неспецифической защиты [14, 15]. Есть мнение, что на течение эхинококкоза влияют генетические факторы [17].

Существует несколько гипотез, объясняющих развитие послеоперационных рецидивных эхинококковых кист в организме человека. Наибольшее значение в патогенезе рецидивов придают следующим фактам [13, 15, 61]:

- ларвоцисты эхинококка способны к экзогенному почкованию, при котором зародышевые элементы мигрируют через хитиновую оболочку и фиброзную капсулу в перикистозные ткани (метастазирование);
- протосколексы и микроцефалоцисты способны приживаться, попадая в ткани после операции или прорыва кисты (имплантация);
 - доминирующая киста может подавлять рост других кист и после ее удаления начинается развитие резидуального рецидива;
 - не исключается вероятность реинвазии из-за отсутствия устойчивого иммунитета к эхинококку.

В результате в организме человека могут развиваться метастатические (при миграции протосколексов), имплантационные (при диссеминации зародышевых элементов во время операции), реинвазивные (возникающие при повторном заражении), резидуальные (не распознанные из-за неравномерного развития кист при сочетанном и множественном эхинококкозе) по природе происхождения рецидивные кисты [13].

Доказательством способности протосколексов и микроцефалоцист к имплантационной приживаемости служат многочисленные клинические наблюдения: развитие кист в послеоперационном рубце, диссеминированные

формы поражения после прорыва кист в брюшную и плевральную полости и др. [89]. Наиболее устойчивыми к химическому обеззараживанию и поэтому самым важным фактором в возникновении послеоперационных рецидивов заболевания считают микроацефалоцисты [15, 81]. Было установлено массовое формирование микроскопических ацефалоцист из герминативных клеток ножки протосколекса у эхинококка по типу альвеококка [15, 46]. Для интраоперационной обработки были разработаны высокоэффективные гермициды, губительные именно для ацефалоцист эхинококка. Наиболее надежными и пригодными для практического применения оказались 80-100% глицерин и 30% раствор хлорида натрия [11, 57].

Есть мнение, что при эхинококкозе, в условиях соблюдения принципов апаразитарности и антипаразитарности хирургического вмешательства, ведущее значение в патогенезе рецидива болезни приобретает развитие мелких не диагностируемых резидуальных кист [24]. Одним из механизмов множественного поражения, а также развития резидуального рецидива эхинококкоза, является образование кист из зародышей материнской кисты при инфильтративном росте, экзогенная пролиферация зародышевых элементов встречается в 4,3% наблюдений [46]. Много дискуссий по поводу возможности развития рецидивов из зародышевых элементов первичной кисты эхинококка, внедренных в фиброзную капсулу и перикистозную ткань. Убедительных доказательств выхода зародышевых элементов эхинококка за пределы фиброзной капсулы, что оправдывало бы применение радикальных перицистэктомий и резекций органа, пока нет. Об этом же свидетельствуют и результаты исследований, в которых на большом количестве материала показано, что частота рецидива одинакова как при закрытых эхинококкэктомиях, чрескожных вмешательствах, так и при применении перицистэктомий и резекций органа [155, 214]. В то же время обнаруживали жизнеспособные протосколексы, внедренные в фиброзную капсулу [31, 46]. Однако, обнаружение значительной частоты рецидивов эхинококкоза в удаленных от первичного очага сегментах органа (43,4%) и даже поражение

другой доли печени рецидивом (20%) ставит под сомнение роль миграции зародышей через фиброзную капсулу [89, 180].

Исследования последних лет показывают, что рецидивы чаще наблюдаются при осложненном эхинококкозе, при мёртвых или нагноившихся кистах, когда деструкция кутикулярной оболочки создает условия для миграции зародышей в печень [10, 64, 75]. При первично-множественном поражении эхинококкозом с диаметром кисты более 5 см, также возрастает риск развития рецидивов [64, 75].

На основании лабораторных и патоморфологических исследований было установлено, что при живом паразите кутикулярная оболочка является непроницаемой для протосколексов в полость фиброзной капсулы. Гибель материнской кисты приводит к разрушению кутикулярной оболочки и сопровождается обсеменением фиброзной капсулы и риском распространения зародышей гематогенным и лимфогенным путями.

Есть работы, в которых признают значительную роль повторного заражения в развитии рецидивов болезни [24]. В то же время есть мнение, что вероятность развития рецидива в связи с реинвазией эхинококка незначительна (0,04%), поскольку степень реализации инвазии низка [14].

В хирургии эхинококкоза было выделено новое понятие - «поздние» рецидивы заболевания. Поздние рецидивы эхинококкоза отличаются от ранних рецидивов клинически более тяжелой формой заболевания преимущественно с мертвым паразитом (89,7%) в различных стадиях посмертных изменений средних и больших (43%) размеров. Большая часть поздних рецидивов (82,9%) диагностировалась в сроки 10-30 лет после первой операции [93]. Поздние рецидивы заболевания после хирургического лечения были диагностированы У.Ш. Хушвактовым (2012) у 32% больных с рецидивами заболевания, чаще всего они локализовались в печени (63,3%), брюшной полости (14,5%), легких (2,6%) [93]. Ранние рецидивы заболевания в сроки от 7 до 24 месяцев после операции имели размеры в среднем 4,8 см и соответствовали, как правило, CL-типу по классификации ВОЗ [63].

1.3. Лечение рецидивов однокамерного эхинококкоза печени в ближайщие и отдаленные сроки после хирургического лечения

Основной метод лечения как первичного, так и рецидивного эхинококкоза печени – хирургический. Оперативное вмешательство в различных модификациях применяется более чем у 90% всех больных эхинококкозом печени [20, 21, 189]. В то же время в практической медицине могут придерживаться подхода «Watch and Wait» (наблюдать и ждать) при неактивных малых эхинококковых кистах, поскольку 18-20% из них могут оставаться стабильными в течение долгого времени без какого-либо лечения [163, 167, 172].

Этот подход опирается на наблюдении, что кисты при однокамерном эхинококкозе проходят неоднозначный путь развития в течение месяцев или лет и прогнозировать который пока еще не получается. Выжидательная тактика, например, рекомендуется для бессимптомных кист CE3b (по ВОЗ) [167]. Учитывается также тот факт, что при кистах печени менее 5 см, расположенных в глубине паренхимы традиционная оперативная техника сопряжена с большим риском развития осложнений.

Выбор показаний, характер и объём операции, способ обработки кисты, необходимость дренирования, способ ликвидации остаточной полости остаются предметом дискуссии [45, 53, 54, 121, 161]. Следует отметить, что ни при одном очаговом заболевании печени не было предложено такое количество различных видов операций, как при эхинококкозе печени. До середины 90-х годов преимущественно в лечении рецидива эхинококкоза печени (РЭП) в основном применяли традиционные хирургические вмешательства:

- одномоментное удаление эхинококковой кисты без вскрытия просвета кисты - идеальная эхинококкэктомия,
- эхинококкэктомию с ликвидацией полости кисты методом капитонажа - закрытая эхинококкэктомия,

- эхинококкэктомию с капитонажем или тампонадой полости кисты сальником и оставлением дренажа в ней - полузакрытая эхинококкэктомия,
- одномоментную эхинококкэктомию с частичным или тотальным иссечением фиброзной капсулы - перицистэктомию,
- резекцию печени вместе с эхинококковыми кистами.

В настоящее время продолжают использовать традиционные эхинококкэктомии с лапаротомией, а также применяют резекции печени, лапароскопические эхинококкэктомии и чрескожные пункционно-дренирующие методы [3, 78, 202, 203]. Традиционная эхинококкэктомия (с лапаротомией, со вскрытием полости кисты, последующим удалением оболочек и противопаразитарной обработкой капсулы) - самая распространенная в эндемичных по эхинококкозу регионах, доступная широкому кругу хирургов. Но по непосредственным и отдаленным результатам ее не все считают эффективной в отношении рецидивов [199, 200].

Мнение многих специалистов сходится к тому, что основным путем снижения частоты рецидивов эхинококковой болезни следует считать выполнение закрытой эхинококкэктомии, когда киста удаляется без её пункции и вскрытия [60, 84]. Открытую эхинококкэктомию при первичном эхинококкозе печени (ПЭП) выполняют в исключительных случаях, когда киста печени имеет центральную локализацию, либо при тяжелом состоянии больного, в старческом возрасте [174]. При закрытой эхинококкэктомии рецидив заболевания отмечен в 3% наблюдений, а при открытой эхинококкэктомии - 18% [56, 60, 84]. Частота послеоперационных осложнений после традиционных операций составляет 6 - 80%, а летальность 3 - 8% [87, 165].

После обнаружения факта миграции зародышевых элементов в перикистозные ткани, хирурги стали пересматривать хирургическую тактику при эхинококкозе печени в пользу перицистэктомии [95]. Хотя перицистэктомия довольно сложна, все авторы отмечают значительное

снижение количества послеоперационных осложнений. Перицистэктомии применяют при краевом расположении кист и отсутствии их контакта с крупными сосудисто-секреторными элементами [10, 11]. В ряде клиник количество перицистэктомии составляет 6 - 35% от всех выполненных операций по поводу эхинококкоза печени [200].

Доказано, что традиционная эхинококкэктомия чаще сопровождается послеоперационными осложнениями (в том числе рецидивами заболевания), а радикальная (тотальная перицистэктомия или резекция печени) более эффективна в отношении профилактики рецидивов, но характеризуется большим числом интраоперационных осложнений [114, 146, 199].

Резекцию печени, выполненную без вылушивания кисты («идеальная» резекция), считают наиболее радикальной операцией, эффективной в отношении рецидивов и различных осложнений в послеоперационном периоде [4, 180, 201]. Анализ 478 публикаций о результатах лечения 1267 больных эхинококкозом печени, проведенный He Y. et al. (2015) показал, что после радикальных операций существенно ($p < 0,0001$) реже возникают рецидивы, чем после традиционной хирургии [134].

Резекция печени не так давно используется для хирургического лечения эхинококкоза, и показания к ней сужены из-за высокой послеоперационной летальности. В настоящее время летальность при выполнении обширных резекций печени по отводу эхинококкоза варьирует в пределах 2,4 - 10% [4, 180]. Наблюдается определенная тенденция к предпочтению резекций в оперативном лечении эхинококкоза печени, как за рубежом, так и в России [95, 200, 201, 206]. Значение имеет то, что при анатомической резекции печени отсутствует проблема остаточной полости, являющейся причиной многих осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде. Рецидивные кисты печени удаляют в основном с использованием резекционных вмешательств [123]. Резекции печени противопоказаны при локализации кисты в области кавальных и глиссоновых ворот (задние отделы VIII и IV сегментов) [11]. При интрапаренхимальных локализациях

эхинококковых кист наиболее часто используемыми операциями являются закрытая эхинококкэктомия и оментопластика [206]. В то же время ряд авторов считают, что хирургическое вмешательство при эхинококкозе печени должно основываться на органосохраняющих принципах [42, 157], в том числе и потому, что нельзя исключить возможность резидуальных кист и необходимости повторной операции.

Перспективным является использование криохирургии для лечения очаговых поражений печени, в том числе при эхинококкозе [47]. Установлено, что криодеструкция ведет к гибели паразитарных элементов и предупреждает рецидивы [47].

Научные достижения последних лет изменили требования к выбору метода лечения больных эхинококкозом. Выбор доступа и типа операции теперь чаще осуществляют с учетом локализации и размеров кист, наличия осложнений [124, 207]. Для эхинококкоза печени свойственно многообразие локализации, размеров и поэтому не может быть универсального оперативного доступа. Наиболее часто применяют доступ по правому подреберью по С.П. Федорову [42, 71, 102]. Например, при локализации кист в VII-VIII сегментах, спаянных с диафрагмой и при больших размерах, реже стали применять торакальный доступ, чаще - абдоминальный в правом подреберье по Федорову. При локализации кист в зоне I, II, III сегментов чаще применяют верхнесрединный доступ [2, 102].

Нет полной ясности и в отношении тактики ликвидации остаточной полости после эхинококкэктомии. Капитонаж и тампонирование полости кисты раньше не редко применяли. Марсупиализацию в различных модификациях ряд авторов считали самым малотравматичным вмешательством. Этот подход в настоящее время не имеет широкого применения среди хирургов, что обусловлено рядом недостатков: медленной облитерацией остаточной полости; вероятностью развития кровотечения в раннем и отдаленном послеоперационном периоде; формированием желчных

свищей; риском рецидива; вероятностью развития послеоперационной грыжи [69, 81].

В последнее десятилетие стали шире применять минимально инвазивные методы хирургического лечения эхинококкоза [21, 23, 51, 55]. Первые чрескожные операции по поводу эхинококкоза печени в России были успешно проведены в 1986 г. в г. Москве А.Н. Лотовым и независимо от него А.В. Гаврилиным. Несмотря на мнение, что эти вмешательства просты в исполнении, они могут дать серьезные интра- и послеоперационные осложнения (анафилактические реакции) [81]. Поэтому эти типы вмешательств ограничены критериями строгого отбора и выполняются в специализированных отделениях [24]. Абсолютным противопоказанием является локализация кист в VII и I сегментах, относительным - центральное расположение кисты, размер более 10 см, наличие дочерних пузырей, утолщенные и кальцинированные стенки [159, 174].

Показаниями для лапароскопической эхинококкэктомии являются: солитарные, небольшие и поверхностно расположенные кисты печени [139]. Осложненные и множественные кисты печени также отнесли к противопоказаниям лапароскопической эхинококкэктомии [20, 79]. Считается возможным и целесообразным применение миниинвазивных хирургических методов к наиболее тяжелой группе пожилых больных эхинококкозом, при сложной анатомической локализации [90, 104]. Их выполняют в два этапа: с предварительной чрескожной пункцией и противопаразитарной обработкой кисты с последующей лапароскопической эхинококкэктомией. Ряд авторов, проанализировав опыт проведения минимально инвазивных операций ряда ведущих клиник России, обозначили их как метод выбора в лечении больных эхинококкозом [20, 60, 81, 94]. Однако, несмотря на преимущества чрескожных вмешательств, они еще далеки для широкого применения из-за опасных осложнений (например, анафилаксии) [154]. ВОЗ рекомендует в основу лечебной стратегии при эхинококкозе печени положить радикальные методы операций. В то же время ряд клиник относят традиционные

радикальные методы (перицистэктомии, резекции) к целесообразным, лишь при выявлении экзогенной пролиферации кист и при массивном кальцинозе фиброзной капсулы [22, 189].

Исследования показывают, что частота рецидива болезни после чрескожных вмешательств и перицистэктомии практически одинаковы [214]. Но не все согласны с тем, что традиционное лапаротомное вмешательство у больных с эхинококкозом печени уступает по эффективности чрескожным методам и поэтому часто опытные хирурги предпочитают его [123, 180].

Есть мнение, что методы чрескожной эхинококкэктомии в сочетании с химиотерапией альбендазолом являются безопасными и эффективными для лечения неосложненного эхинококкоза печени [114, 148, 189, 204]. Например, пункционно-аспирационный метод (PAIR - puncture, aspiration, injection, reaspiration), разработанный Бен Амор и др., популярен в ряде клиник при лечении солитарных неосложненных кист [157, 168, 199]. Но при PAIR кисты типа CE2 и CE3b дают часто рецидивы [119]. Чрескожное дренирование используют даже при наличии дочерних пузырей [124]. Единственным противопоказанием к чрескожной эхинококкэктомии считают выход зародышевых элементов за пределы фиброзной капсулы (экзогенное почкование), поскольку нет возможности воздействовать на них гермицидом и это приводит к рецидиву болезни [21]. Как показывают обзоры литературы частота рецидива при чрескожной эхинококкэктомии зависит от фазы развития кисты [167]. К еще одной проблеме чрескожной эхинококкэктомии относят цистобилиарные свищи, которые могут развиваться у 73-90% пациентов с эхинококковыми кистами диаметром более 7,5 см [157, 176, 201].

Наблюдавшееся в первое время увлечение лапароскопической технологией при эхинококкозе печени за рубежом и в России снизилось. Обусловлено это недостатком опыта таких вмешательств, из-за строгого отбора контингента для таких операций, а также более частым развитием рецидивов [159, 189]. В то же время есть мнение, что лапароскопическая эхинококкэктомия печени, при соблюдении показаний, не уступает по

ближайшим и отдаленным результатам традиционному лапаротомному вмешательству и дает небольшое число рецидивов [62, 137, 153, 158, 160].

К показаниям для применения видеозендохирургической технологии относят неосложненные эхинококковые кисты печени в зонах хорошего обзора, не глубоко залегающие в паренхиме печени, среднего размера, с отсутствием признаков нагноения и прорыва [29, 37, 80].

Таким образом, на основании анализа литературы (обзоров и опубликованных результатов многочисленных исследований) выявлено, что в лечении ПЭП и РЭП [134, 163, 171, 189]:

- при малых (<5 см) солитарных кистах в фазах СЕ1, С3а, С4 и С5 (по ВОЗ), используется подход «Watch and Wait» («наблюдать и ждать») и, как правило, они хорошо поддаются химиотерапии (альбендазола с празиквантелом);
- средние и большие неосложненные кисты лечатся преимущественно сочетанием чрескожной эхинококкэктомии с до и после операционной химиотерапией;
- традиционное хирургическое вмешательство применяют при гигантских кистах (> 10 см), осложнениях и труднодоступных локализациях;
- при множественных кистах, подозрении на обсеменение зародышевыми элементами эхинококка, применяют радикальные операции.

Необходимо учитывать, что эхинококкэктомии, особенно рецидивных кист – это сложные оперативные вмешательства, поэтому опыт и квалификация хирурга имеют существенное значение [123, 135].

1.4. Профилактика рецидивов однокамерного эхинококкоза печени

Проблема недостаточной эффективности профилактики рецидива эхинококкоза стоит перед здравоохранением не только России, но и других

стран. Применение эффективных гермицидов, соблюдение техники операции, использование совершенного инструментария не исключают возможности рецидива эхинококкоза [81]. Считается, что значительный вклад в частоту РЭП вносят такие причины, как: первично – множественное поражение, осложнения первичной кисты (разрыв с обсеменением, выход зародышевых элементов из-за нарушения целостности оболочки), неадекватное соблюдение принципов апаразитарности и антипаразитарности во время первичной операции [21]. До сих пор не разработаны прогностические критерии, определяющие полное излечение и отсутствие риска развития рецидива [130].

Предложено несколько способов деструктивного воздействия на внутреннюю поверхность кисты: деэпителизация при помощи электрокоагуляции в режиме спрей, аргон-усиленной коагуляцией, криовоздействием, расфокусированным лучём лазера [73, 102]. Применение плазменных технологий при эхинококкэктомии позволило существенно улучшить результаты хирургического лечения эхинококкоза печени: послеоперационные осложнения снизились с 36,0% до 11,5%, рецидивы заболевания - с 15% до 1,3% [33, 65, 73, 74].

В то же время есть мнение, что физические методы деэпителизации (электро- и аргон-усиленная коагуляция, лазерная деструкция, криодеструкция фиброзной капсулы) не обеспечивают равномерного воздействия по площади и глубине, сохраняя риск рецидива и повреждения прилежащих к стенке кисты сосудов и желчных протоков [77]. Кроме того, воздействие лазером требует специализированного и дорогого оборудования, что существенно сокращает перспективы их использования в общей хирургической практике.

Большинство из применяемых в хирургической практике средств для антипаразитарной обработки полости фиброзной капсулы обладают серьезными недостатками: высокой токсичностью, прижигающим и раздражающим действием на ткань печени [9, 11]. Наиболее пригодными для практического применения считают 0,04% хлоргексидина биглюконата, 80-

100% глицерин, 30% раствор хлорида натрия, 3% перекись водорода, 1-2% раствор альбендазола в димексиде, различные масла (например, эфирное из растения *Myrtus communis*, персиковое масло) [133, 150, 182, 194]. Глицерин действует как в полости кисты, так и в зоне 8-12 мм за фиброзной капсулой, но только после 5-6 часов после экспозиции [1]. Обработка декасаном, декаметоксином показала хорошие результаты [6, 7, 64].

Доказано, что курсы специфических противопаразитарных препаратов строго обязательны для предупреждения рецидива болезни, даже после идеально выполненной операции. Эти положения закреплены в резолюции конгресса Ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ в 2014 г. Описано много схем медикаментозного воздействия на эхинококкоз. С момента внедрения химиотерапии в комплекс послеоперационной реабилитации частота рецидивов эхинококкоза сократилась [59, 89, 162]. По мнению ряда авторов эффективность профилактики рецидива увеличивается, если химиотерапию проводить не только после хирургического удаления, но и за 1-4 недели перед операцией [19, 112, 136, 191].

Для профилактики рецидива эхинококкоза используют препараты группы карбаматбензимидазолов [117, 209]. В то же время анализ 30-летних результатов химиотерапии эхинококкоза карбаматбензимидазолами в 6 клинических центрах 5 европейских стран (Италия, Болгария, Румыния, Греция, Турция) показал их невысокую эффективность: 40% кист, считавшихся погибшими, через 2 года после лечения вновь становились активными [99, 208]. В настоящее время еще нет единства во мнениях по таким вопросам, как дозы, схемы, длительность химиолечения и химио-профилактики. Ведутся исследования эффективности комбинированной медикаментозной терапии (альбендазола с празиквантелом или в сочетании с нитазоксанидом) [175, 188, 192, 208].

Наиболее эффективным и общепринятым препаратом, используемым для профилактики рецидивов эхинококкоза, признан альбендазол [16, 91, 115, 181, 192]. Его стали применять для лечения в 1983 году. Доказано, что этот

препарат вызывает гибель протосколексов материнской кисты [149], но не полностью эффективен в искоренении зародышей дочерних кист [191]. Внутрикистозная концентрация альбендазол-сульфоксида существенно отличается в зависимости от локализации, фазы жизнедеятельности кисты и у разных индивидуумов [152, 169].

Основной механизм действия альбендазола на гельминтов обусловлен ингибированием полимеризации бета-тубулина, и последующей деструкцией цитоплазматических микроканалцев в клетках их кишечного тракта [49]. Этот препарат изменяет течение биохимических процессов, подавляет утилизацию глюкозы, блокирует передвижение секреторных гранул и других органелл в мышечных клетках червей. Альбендазол вызывает дегенеративные изменения в кистах [131, 132, 136, 167]. По рекомендации Всемирной организации здравоохранения, для снижения опасности развития вторичного эхинококкоза необходимо назначение альбендазола до операции, а также в течение 2 последующих лет. Результаты химиотерапии они оценивали по картине УЗИ (ВОЗ, 1983 г.) как:

- успешное (значительное уменьшение размеров);
- благоприятное (уменьшение размеров);
- безуспешное (отсутствие изменений в кистах).

Эксперименты Morris et al. на лабораторных моделях показали, что в дозе 10 мг/кг в течение недели этот препарат эффективно подавляет рост кисты [162]. Обычно больным рекомендуют принимать альбендазол по схеме, предложенной Horton (1989) и одобренной ВОЗ (по 10-15 мг/кг веса в сутки в три курса лечения по 28 дней с перерывами на 14 дней) [49, 78]. В такой дозе препарат не оказывал токсического влияния на печень у взрослых пациентов [16, 162].

В то же время исследования показывают, что альбендазол не имеет абсолютной эффективности, и после прекращения приема препарата у части пациентов развивается рецидив (например, поэтому Минздрав Канады не рекомендует его использовать) [86, 167, 201]. Как показывают

опубликованные обзоры литературы, химиотерапия полностью эффективна в 10-58% случаев, приводит к улучшению - у 10-51%, неэффективна у 13-37% пациентов, вызывает дегенеративные изменения в кисте в 40-74% случаев [124, 156]. В то же время доказано, что альбендазол-сульфоксид в дозе 200 мкг/мл обладает 100% сколицидной активностью в пробирке [195]. Неудачи лечения от эхинококкоза человека альбендазолом отнесли к его низкой растворимости и плохой скорости абсорбции, что приводит к невысокому уровню препарата в плазме крови человека [49, 195].

Альбендазол (АБЗ) в печени у человека быстро (достигая максимальной концентрации через 2-5 часов) превращается в первичный метаболит альбендазол-сульфоксид (АБЗ-СД), обладающий антигельминтной активностью против цестод и нематод (свиного цепня, эхинококка, альвеококка, трихинеллы и других). Одним из основных ферментов, катализирующих этот процесс, является цитохром СYP3A4. В нем также участвуют флавиновая монооксигеназа (FMO3), цитохромы СYP1A1, СYP2C19. АБЗ-СД под действием ферментов в клетках печени метаболизируется в альбендазол-сульфон (АБЗ-СН). На этом этапе биотрансформации принимает участие цитохром P450 – СYP1A2 [166]. АБЗ-СН затем трансформируется в два гидроксипропилированных метаболита: 2-гидроксипропилсульфон и 3-гидроксипропилсульфон.

Семейство цитохромов P450 СYP1A метаболизирует полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), где важную роль выполняют СYP1A1 и СYP1A2. Гены, кодирующие их, локализованы в хромосоме 15 у человека. Экспрессию обоих генов контролирует один и тот же регуляторный комплекс [27, 49, 97, 141]. Цитохромы, в том числе СYP3A4, СYP2C19, СYP1A участвуют в биотрансформации лекарств и гормонов [27, 113]. Корреляция аллелей генов цитохромов P450 с особенностями метаболизма лекарств стала очевидной в связи с появлением в последнее десятилетие в литературе новых доказательств [27, 49]. Например, разработан высокоэффективный алгоритм

выбора дозы варфарина на основе тестирования полиморфизма гена *CYP2C19*, одобренный в 2007 году комитетом FDA (Food & Drug Administration, USA).

Генетическое разнообразие людей, обусловленное полиморфизмом аллелей генов, определяет индивидуальные особенности метаболизма лекарств. Поэтому, у некоторых больных отсутствует терапевтический эффект лечения или развиваются побочные реакции. Исследования в области генетического контроля метаболизма лекарств привели к развитию нового научного направления персонализированной медицины – фармакогенетики. Например, было установлено, что гены, кодирующие синтез цитохромов P450, имеют полиморфные варианты, влияющие на их активность и индуцибельность. Аллели почти всех генов цитохромов, в зависимости от влияния на метаболизм лекарственных средств, подразделяются на фенотипические группы [27, 49]:

- «экстенсивные» (extensive metabolizers, EM) – с нормальной скоростью метаболизма. Как правило, это гомозиготы «дикого» типа;
- «быстрые» (ultraextensive metabolizers, UM) – с повышенной активностью биотрансформации. UM – гомозиготы при аутосомно-рецессивном типе и гетерозиготы при аутосомно-доминантном типе наследования;
- «медленные» (poor metabolizers, PM) – со сниженной скоростью метаболизма.

У «медленных» метаболизаторов, в отличие от «быстрых» и «экстенсивных», наблюдается значительно более длительный период выведения и часто кумулятивный эффект. Присутствие «быстрого» аллеля в генотипе человека приводит к повышению активности цитохромов и ускорению биотрансформации, соответственно, к низкой терапевтической эффективности общепринятой дозы препарата.

Об особенностях экспрессии генов, контролирующих биотрансформацию альбендазола, опубликованы единичные работы. Выявлено, что этот препарат является индуктором микросомальной

монооксигеназной системы, главным компонентом которой служит цитохром P450 [72]. Монооксигеназная система гепатоцитов – ключевое звено процесса детоксикации ксенобиотиков, в том числе лекарственных препаратов, в организме человека. Установлено, что в метаболизме альбендазола участвуют флавиносодержащие монооксигеназы (FMO) и цитохромы P450: CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2E1, CYP1A2 [166, 185]. Эти же ферменты принимают участие в биотрансформации более чем 60% лекарственных препаратов, кофеина, некоторых гормонов [113].

РЕЗЮМЕ ПО ГЛАВЕ 1

Таким образом, рецидивы эхинококкоза продолжают встречаться в клинической практике, и эта проблема остается не решенной. В настоящее время профилактику рецидива эхинококкоза печени стараются обеспечить химиотерапией до и после операции, радикализмом хирургического вмешательства, которое хоть и гарантирует полноценное удаление зародышевых элементов паразита, но не предупреждает развитие резидуальных кист [180]. Имеет значение также то, что не во всех случаях возможна резекция печени и перицистэктомия у больного эхинококкозом печени.

Разработка новых способов, улучшающих профилактику и лечение рецидивов эхинококкоза, остается по-прежнему актуальной. В настоящее время перспективным направлением становится поиск этиопатогенетических факторов риска развития РЭП, в том числе и генетических, что побудило нас исследовать индивидуальные особенности, влияющие на течение заболевания.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ, ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа носит клинический характер и выполнена на кафедре общей хирургии с курсом лучевой диагностики ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

2.1. Общая характеристика клинического материала

Всего анализу подвергнуты результаты хирургического лечения 464 больных эхинококкозом печени, поступивших в Республиканский центр хирургической гепатологии РБ (РЦХГ). Базой исследования явилась Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова (Уфа).

Дизайн исследования

Исследование проведено в пять этапов. Была составлена программа для каждого этапа, которая включала содержание и объем работы, исследуемые показатели, ожидаемые результаты.

На первом этапе работы проведено ретроспективное исследование клинического материала за 1998 – 2012 годы (15 лет). 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):

- социально-демографические (пол, возраст, район проживания);
- анамнез заболевания;
- результаты УЗИ и МРТ;
- количество кист;
- локализация кист;
- вид хирургического вмешательства;
- характер послеоперационного течения (наличие осложнений, сроки развития рецидива);
- частота развития рецидива (таблица 1).

Таблица 1 - Этапы исследований

Этапы	Содержание, объем исследований	Исследуемые показатели	Ожидаемые результаты
I этап	Ретроспективное исследование клинического материала за 1998 – 2012 годы (n=300)	-Социально – демографические; -Количество кист, их локализация и размер; -Осложнения; -Метод хирургического вмешательства; -Частота рецидива	Особенности развития рецидивных кист после хирургического лечения
II этап	Проспективное исследование собственного клинического	-Социально – демографические; -Количество кист, их локализация и размер;	Сроки и динамика частоты развития рецидива

	материала за 2013 – 2016 годы (n=164)	-Метод хирургического вмешательства; -Сроки и частота рецидива	после хирургического лечения
III этап	Морфологические и генетические исследования кист (n=35), выделенных у пациентов II этапа исследований	-Фертильность кист; -Жизнеспособность протосколексов; -Полиморфизм гена <i>cox1 Echinococcus granulosus</i>	Основные причины развития рецидива
IV этап	Эффективность профилактики рецидива альбендазолом. Пациенты II этапа (n=164)	-Полиморфизм гена <i>CYP1A2</i>	Дифференцированный подход к химиотерапии
V этап	Изучение особенностей хирургического лечения рецидива эхинококкоза. Пациенты II этапа, больные РЭП (n=28)	-Виды оперативных вмешательств; -Жизнеспособность протосколексов в материнских и дочерних пузырях	Улучшение результатов лечения рецидива заболевания

Критерии включения в исследование:

1. возраст пациентов 18 лет и старше;
2. размеры эхинококковых кист более 4 см;
3. по осложнениям: осложненные и неосложненные кисты;
4. по лечению: все пациенты, подвергнутые хирургическому вмешательству;
5. оперированы в одном лечебном учреждении (РКБ им. Г.Г. Куватова).

Критерии исключения из исследования:

1. дети и подростки до 18 лет;
2. размеры эхинококковых кист менее 4 см;
3. оперированы в других медицинских учреждениях;

4. отказ больных от оперативного лечения;
5. отсутствие полной информации о ближайших и отдаленных результатах (в связи с переездом на другое место жительства, летальности от других заболеваний, утеря медицинских документов и другие).

Все пациенты исследуемой выборки поступали из районов и городов РБ. Сельских жителей было 268 (89,3%) - больше, чем городских (10,7%). Профессиональный состав пациентов был разным. Среди пациентов мужчин было 172 (57,3%), женщин - 128 (42,7%). Лица в возрасте от 21 до 60 лет составляли 76,3%. Женщин в возрасте старше 60 лет было больше, чем мужчин (соответственно 8,6% и 4,7%). Возрастной и половой состав пациентов, вошедших в исследование отражен в таблице 2.

Таблица 2 - Распределение больных (n=300) эхинококкозом печени в зависимости от пола и возраста

№	Возраст (лет)	Мужчин абс. (%)	Женщин абс. (%)	Всего абс. (%)
1	До 20	17 (5,7)	14 (4,7)	31 (10,4)
2	21-40	83 (27,6)	44 (14,7)	127 (42,3)
3	41-60	58 (19,3)	44 (14,7)	102 (34,0)
4	Старше 60	14 (4,7)	26 (8,6)	40 (13,3)
5	Итого	172 (57,3)	128 (42,7)	300 (100)

У 60,7% больных эхинококкозом диагностировалась солитарная форма поражения, среди них у мужчин 31,3% и у женщин 29,3% (таблица 3).

Таблица 3 - Распределение больных (n=300) эхинококкозом печени мужчин и женщин по количеству 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. Сочетанная локализация кист в печени и в других органах брюшной полости диагностировалась у 7,7% мужчин и у 7,1% женщин.

Проведен анализ локализации кист у больных эхинококкозом печени (таблица 4).

Таблица 4 - Распределение больных (n=300) с эхинококкозом печени в зависимости от локализации кист

Локализация кист	Количество абс (%)
Правая доля печени	224 (74,6)
Левая доля печени	14 (4,7)
Обе доли печени	18 (6,0)
Правая доля печени и др. органы брюшной полости	23 (7,7)
Левая доля печени и др. органы брюшной полости	7 (2,3)
Обе доли печени и др. органы брюшной полости	14 (4,7)
Итого	300 (100)

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 17,3% случаев. Среди осложнений встречалось нагноение кисты у 11,0% больных. У 3,7% пациентов наблюдалось обызвествление фиброзной капсулы и у 2,6% - прорыв кисты (таблица 5).

Таблица 5 - Распределение больных (n=300) с эхинококкозом печени в зависимости от осложнений

Осложнения	Количество больных абс (%)
Нет осложнений	248 (82,7)

Нагноение	33 (11,0)
Обызвествление	11 (3,7)
Прорыв кисты	8 (2,6)
Всего	300 (100)

Из общего числа больных первичный эхинококкоз был у 242 (80,7%) и у 58 (19,3%) пациентов наблюдался рецидив заболевания после хирургического лечения. Все оперативные вмешательства выполнялись после предоперационной подготовки, объем и длительность которой были индивидуальны в зависимости от тяжести состояния и осложнений. В основном (82,3%) выполнялись органосохраняющие операции (закрытые и полужакрытые эхинококкэктомии).

На втором этапе работы проведено проспективное исследование клинического материала за 2013 – 2016 годы (4 года) по медицинским картам стационарного больного (ф.003/у) и собственным наблюдениям. Объем наблюдения составил 164 больных эхинококкозом печени, взятых методом случайного отбора. Материалами исследования служили сведения:

- социально-демографические (пол, возраст);
- результаты УЗИ и КТ;
- количество и локализация кист;
- вид хирургического вмешательства;
- характер послеоперационного течения (наличие осложнений, сроки развития рецидива);
- клинико-лабораторные данные;
- схема химиотерапии.

Критерии включения в исследование:

1. добровольное согласие больных на участие в клиническом исследовании;
2. возраст пациентов 18 лет и старше;
3. размеры эхинококковых кист более 4 см;
4. по осложнениям: осложненные и неосложненные кисты;

5. по лечению: все пациенты, подвергнутые хирургическому вмешательству;

6. информированное согласие пациентов на изменение схемы лечения альбендазолом в послеоперационном периоде в зависимости от молекулярно-генетического исследования;

7. информирование пациентов о возможных побочных действиях альбендазола.

Критерии исключения:

1. отказ больных от участия в клиническом исследовании;
2. дети и подростки до 18 лет;
3. размеры эхинококковых кист менее 4 см;
4. оперированы в других медицинских учреждениях;
5. отказ больных от оперативного лечения;
6. отказ больных от приема альбендазола в послеоперационном периоде, несмотря на информацию о высоком риске рецидива.

Среди анализируемых 164 случаев заболевания эхинококкозом печени пациентов лиц 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). Возрастной и половой состав пациентов, вошедших в исследование, отражен в таблице 6.

Таблица 6 - Распределение больных (n=164) эхинококкозом печени в зависимости от пола и возраста

№	Возраст (лет)	Мужчин абс. (%)	Женщин абс. (%)	Всего абс. (%)
1	До 20	14 (8,5)	7 (4,3)	21 (12,8)
2	21-40	30 (18,3)	43 (26,2)	73 (44,5)
3	41-60	27 (16,5)	26 (15,8)	53 (32,3)
4	Старше 60	6 (3,7)	11 (6,7)	17 (10,4)
5	Итого	77 (47,0)	87 (53,0)	164 (100)

Провели сравнительный анализ локализации, размеров и фазы жизнедеятельности кист у больных первичным и рецидивным эхинококкозом печени, путем анализа результатов УЗИ, КТ, МРТ и протоколов операций.

Среди анализируемых случаев у 75 (55,1%) пациентов с ПЭП была обнаружена солитарная киста в печени (таблица 7).

Таблица 7 - 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)
• только в печени	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 органов брюшной полости обнаруживались у 84 (51,2%) больных эхинококкозом, в том числе у 61 (44,9%) пациентов с ПЭП.

Правая доля печени была поражена у 104 (63,4%) больных эхинококкозом печени, левая - у 17 (10,4%) пациентов (таблица 8).

Таблица 8 - Распределение больных (n=164) эхинококкозом печени в зависимости от локализации кист

Локализация кист	Количество пациентов
Правая доля печени	104 (63,4)
Левая доля печени	17 (10,4)
Обе доли печени	16 (9,8)
Правая доля печени и др. органы брюшной полости	14 (8,5)

Левая доля печени и др. органы брюшной полости	5 (3,0)
Обе доли печени и др. органы брюшной полости	8 (4,9)
Итого	164 (100)

Поражение обеих долей печени наблюдалось у 16 (9,8%) больных. У 16,4% пациентов наблюдалось сочетанное поражение печени и брюшной полости.

Провели сравнительный анализ размеров эхинококковых кист у больных ПЭП и РЭП (таблица 9).

Таблица 9 - Распределение кист у больных с первичным (n=136) и рецидивным (n=28) эхинококкозом печени в зависимости от размеров

Диаметр кист*	ПЭП абс (%)	РЭП абс (%)
До 50 мм (малые)	8 (5,9)	3 (10,7)
50 – 100 мм (средние)	68 (50,0)	15 (53,6)
101 – 200 мм (большие)	52 (38,2)	9 (32,1)
более 200 мм (гигантские)	8 (5,9)	1 (3,6)

*Примечание: *при множественном эхинококкозе учитывали размер наибольшей кисты*

В соответствии с общепринятой классификацией [84] размеры кист разделили на малые (с диаметром менее 50 мм), средние (от 50 до 100 мм), большие (от 101 до 200 мм) и гигантские (более 200 мм). Выявили, что у половины больных при ПЭП (50,0%) и у более, чем половины при РЭП (53,6%) обнаруживались кисты средних размеров.

На третьем этапе работы исследовали эхинококковые пузыри (кисты), выделенные во время оперативного вмешательства у пациентов, поступавших в РЦХГ за 2013-2016 гг. Эхинококковые пузыри доставляли в лабораторию с соблюдением всех правил безопасности, не позднее 24 часов после операции. Базой исследования явилась клиничко-диагностическая лаборатория ООО «МедиаЛаб» (Уфа).

Для проведения работы была собрана коллекция из 35 эхинококковых пузырей. Среди них 17 кист, полученных от пациентов, оперированных по поводу рецидивного эхинококкоза печени. Определяли фертильность эхинококковых пузырей, для этого изучали внутреннее содержимое кист: наличие протосколексов, выводковых капсул, дочерних пузырей.

Определяли жизнеспособность протосколексов. Поскольку инвазионными началами эхинококкового пузыря являются протосколексы, то определение их жизнеспособности имеет важное значение для профилактики рецидивов.

Провели молекулярно-генетические исследования по обнаружению маркерного фрагмента митохондриального гена *cox1*, характеризующего принадлежность к виду *E. granulosus*. Материалом служили образцы ДНК, выделенные из 18 кист у больных с первичным эхинококкозом и 3 – у пациентов с РЭП.

На четвертом этапе работы исследовали эффективность профилактики рецидивов эхинококкоза печени альбендазолом у тех же 164 пациентов, поступавших в РЦХГ в 2013-2016 гг. Пациенты были разделены на 2 группы: основную и сравнения. В основную группу вошли 57 больных эхинококкозом печени, принимавших альбендазол для профилактики рецидива по дифференцированной схеме, с учетом генотипа (рисунок 2).



Рисунок 2 – Схема анализа результатов IV этап исследований

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 (не более 800 мг) в три курса в год по 28 дней с перерывами по 14 дней. У пациентов основной группы провели исследование полиморфизма *1F(C-163A) 1 интрона гена *CYP1A2* методом ПЦР-ПДРФ анализа. Белок, входящий в состав цитохрома P450 *CYP1A2*, имеет 515 аминокислот. Ген, кодирующий синтез белка *CYP1A2*, находится в 15 хромосоме и экспрессируется в основном у человека в клетках печени. В соответствии с результатами генетического тестирования назначили схему лечения альбендазолом. Провели анализ частоты РЭП через 0,5-3 года.

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.

2.2. Методы исследований

На 1 и 2 этапах провели исследования путем выкопировки информации из медицинских карт стационарных больных первичным и рецидивным эхинококкозом печени, поступивших на хирургическое лечение в РЦПХ. Подсчитывали процентное соотношение каждого показателя по отношению к общему числу.

На третьем этапе изучали особенности макро- и микроскопического строения кист при первичном и рецидивном эхинококкозе печени при помощи визуального осмотра оболочки пузырей и световой микроскопии их содержимого: дочерних пузырей, выводковых капсул и протосколексов (рисунок 3).

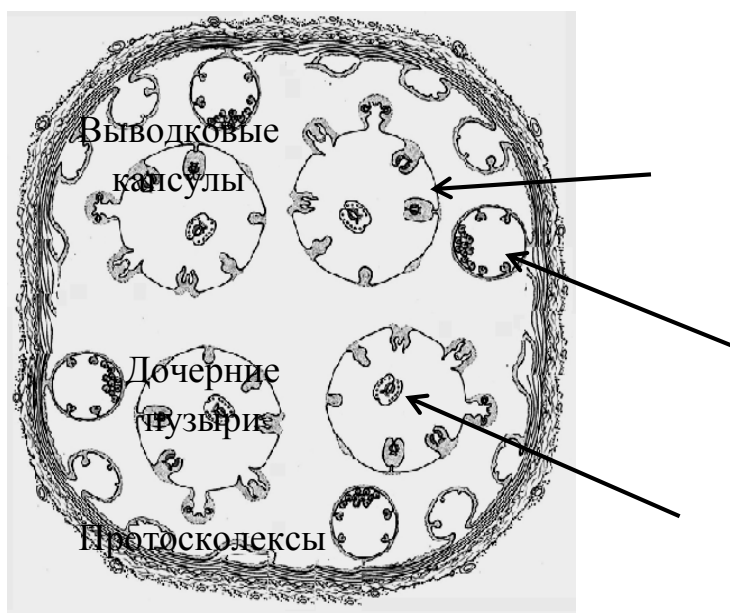


Рисунок 3 - Схематичное изображение эхинококкового пузыря (по Журавец А.К., 2004 [39], с дополнениями)

Кисты классифицировали по размерам. Брели наибольший из показателей трехмерной величины. Например, показатели 57×83×55 мм – брали как размер 83 мм.

В качестве критериев, характеризующих морфофизиологические особенности, были исследованы следующие параметры:

1. Состояние жидкости кист (прозрачность, нагноение);
2. Наличие эвагинированных и инвагинированных протосколексов и их жизнеспособность;
3. Наличие (отсутствие) дочерних пузырей и выводковых капсул.

Морфофизиологические исследования эхинококковых кист печени

Соблюдая асептику, из эхинококкового пузыря стерильной пипеткой собирали протосколексы. Затем каплю исследуемого материала помещали на предметное стекло, добавляли каплю раствора Люголя (в качестве красителя) и покрывали покровным стеклом. Показатель плодоносности вычисляли путем расчета количества фертильных кист, содержащих протосколексы в пузырной жидкости, к общему числу исследуемых кист (в %).

Жизнеспособность исследовали стандартным методом путем окрашивания 0,1% эозином [149, 191]. Жизнеспособные протосколексы не окрашивались. Определение моторики жизнеспособных протосколексов проводили следующим образом: на предметное стекло с лункой (диаметром 20 мм) помещали 1 каплю осадка пузырной жидкости, 3 капли активизирующего раствора (80% глицерина). После чего исследовали под микроскопом (согласно рекомендациям Журавец А.К., 2004; Аничкин В.В. и др., 2013) [9, 39]. Жизнеспособные протосколексы под действием активизирующего раствора становились подвижными, выворачивались и визуально выглядели как эвагинированные. Нежизнеспособные протосколексы под действием глицерина оставались неподвижными и со временем разрушались (то есть не имели инвазионной способности). Протосколексы рассматривали под световым микроскопом «Биолам» при

увеличении $\times 400$ ($\times 10$ – окуляр, $\times 40$ – объектив), $\times 900$, $\times 1500$ на предметном стекле. Подсчитывали долю (в %) эвагинированных и инвагинированных к общему числу протосколексов.

Состояние жизнеспособности также определяли по наличию известковых телец в протосколексах, при увеличении $\times 1000$ ($\times 10$ – окуляр, $\times 100$ – объектив) под микроскопом «Биолам». Показатель жизнеспособности подсчитывали путем нахождения процентного соотношения живых протосколексов к их общему числу.

Молекулярно-генетические исследования эхинококковых кист печени

Материалом для молекулярно-генетических исследований служили образцы ДНК, выделенные из клеток герминативной оболочки и протосколексов.

Выделение ДНК из клеток E. granulosus

Соскабливали содержимое из внутренней поверхности оболочки эхинококкового пузыря, затем замораживали жидким азотом и растирали в фарфоровой ступке. Полученный материал суспендировали в 1 мл буфера TE (10 mM трис-основание, pH=7,4 и 1mM ЭДТА, pH=8,0). ДНК выделяли с протеиназой К. Для этого к 200 мкл взвеси из клеток добавляли лизирующий буфер (100 mM NaCl; 50 mM трис-HCl, pH= 8,0; 50 mM ЭДТА, pH 8,0; 1% SDS) 300 мкл и 500 мкг протеиназы К на пробу. Пробу инкубировали в течение 10 часов при температуре 56°C. Депротенинизацию и осаждение ДНК проводили стандартным фенол-хлороформным методом Sambrook J. et al., 1987 [193]. ДНК осаждали 96° этанолом, инкубировали при температуре -20°C в течение 15 минут и центрифугировали при 10 000 об/мин 10 минут. Осадок ДНК промывали 70° этанолом, затем просушивали его на воздухе и растворяли в деионизированной воде.

Генотипирование эхинококковых пузырей

В качестве маркера использовали фрагмент митохондриального гена *cox1*, кодирующего субъединицу 1 фермента цитохром-с-оксидазы *E.*

granulosus [118]. Для получения фрагментов гена *cox1* применили метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК [18, 118, 143, 173]. ПЦР проводили на четырехканальном термоциклере «Терцик» научно-производственной фирмы «ДНК-Технология» (Москва). Использовали праймеры синтезированные в НПФ «Литех», ООО НПФ «Синтол» (Россия):

№1: 5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' (прямой); 5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3' (обратный) [118] и

№2: 5' TGTGTTGATTTTGCCTGG 3' (прямой); 5' GCCACCACAAACCAAGTATC 3' (обратный) [18].

Установили режим работы термоциклера: 1 цикл предварительной денатурации при температуре 94°C в течение 3 мин; 35 циклов с параметрами: денатурация при температуре 94°C в течение 30 сек, отжиг праймеров при температуре 52°C в течение 30 сек, элонгация цепи при температуре 72°C в течение 30 сек; финальная инкубация 1 цикл при температуре 72°C в течение 10 мин; хранение при температуре 16°C.

Продукты ПЦР амплификации анализировали электрофоретическим разделением смеси в 10% ПААГ, после окрашивания бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете на трансиллюминаторе («Vilber Lourmat» ТСП-20М). В качестве маркера молекулярных масс использовали фрагменты ДНК плазмиды pUC 19/MSpI («СибЭнзим», Россия).

На четвертом этапе исследований провели анализ полиморфизма гена *CYP1A2* у больных эхинококкозом печени.

*Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма гена CYP1A2 у
больных эхинококкозом печени*

В качестве объекта для молекулярно-генетических исследований использовали образцы ДНК, полученные из цельной периферической венозной крови больных эхинококкозом печени методом фенольно-хлороформной экстракции, описанным Mathew С.С. [213].

Выделение ДНК. 3 мл крови набирали в пробирку с консервантом тщательно перемешивали и переливали в центрифужный стакан на 100 мл, затем добавляли 50 мл охлажденного лизирующего буфера, содержащего 320 мМ сахарозы, 1% раствор тритона X-100, 5мМ MgCl₂, 10мМ трисHCl (pH=7,6). Смесь центрифугировали 20 мин. при 4 000 об/мин. К осадку добавляли 8 мл 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и суспензировали. К суспензии добавляли 0,8 мл 10% SDS и протеиназу К (в концентрации - 10 мг/мл). Смесь помещали в термостат на 12 часов при температуре 38°C. Экстракцию ДНК осуществляли в следующем порядке: для депротенизации к лизату приливали 0,5 мл 5М перхлората натрия и 8 мл фенола, насыщенного 1М трисHCl до pH=7,8. Смесь центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 10 мин. Отбирали водную фазу, содержащую ДНК, РНК и не денатурированные белки. Отобранную фазу обрабатывали смесью фенол-хлороформа (1:1), а затем - хлороформом. Препараты осаждали двумя объемами 96% этанола. Образовавшийся осадок ДНК растворяли в 1,5 мл деионизированной H₂O. Раствор хранили при температуре -20°C.

Геномное типирование

Полученную ДНК использовали для исследования полиморфизма 1 интрона *1F(C-163A) гена *CYP1A2* (rs762551), локализованного в 15 хромосоме (15q22-qter) [97, 141, 179]. Применили метод ПЦР-ПДРФ анализа (полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции синтеза ДНК) в стандартных условиях [179]. Для амплификации маркерного фрагмента применяли локуспецифические олигонуклеотидные праймеры с температурой отжига 57°C:

5' TGAGGCTCCTTTCCAGCTCTCA3' (прямой)

5' AGAAGCTTGTGGCCGAGAAGG3' (обратный)

После амплификации ПЦР-продукты подвергали гидролизу эндонуклеазой AраI. Для этого 5 мкл амплификата смешивали с 5 ед фермента в буфере, согласно инструкциям производителей («Сибэнзим», Новосибирск) в течение 12 часов. Фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в 7-8%

ПААГ, окрашивали раствором бромида этидия и анализировали на трансиллюминаторе. При обнаружении фрагментов ДНК размером 265 пн диагностировали генотип *CYP1A2F1**A/A (AA) - «быстрого» метаболизера альбендазол-сульфоксида; при выявлении фрагментов длиной 265, 211 и 54 пн - генотип *CYP1A2F1**A/C (AC) - с фенотипом «нормального» (поскольку наследование признака аутосомно-доминантное); и при обнаружении фрагментов ДНК размерами 211 и 54 пн - генотип *CYP1A2F1**C/C (CC) - с фенотипом «нормального» метаболизера. Обнаружение генотипа *CYP1A2F1**A/A позволяет выявить слабую эффективность химиотерапии альбендазолом и соответственно – развитие рецидива эхинококкоза печени после лечения (рисунок 4).



Рисунок 4 - ПЦР-ПДРФ продукты гена *CYP1A2F1*: дорожки 3, 5 - пациентов с генотипом AA; дорожка 4 – AC; дорожки 1, 2 – CC

2.3. Статистический анализ

Статистическую обработку исходных и полученных данных проводили с использованием персонального компьютера. Информация о пациентах, была обезличена и внесена в базу данных в виде таблицы Microsoft Excel. Обработка первичных данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel XP.

Для статистического анализа применяли стандартные методы с вычислением средних значений. Оценку достоверности различий между величинами проводили при помощи критерия Стьюдента (t). Определение

частот генотипов (P_i) и аллелей (p_i) генов проводили по стандартной формуле: $P_i = N_i/N$, где N_i – число i генотипов, N – объем выборки. Частоты генотипов выражали в процентах. Математическую обработку результатов молекулярно-генетических исследований проводили с использованием пакета статистических программ: “Rows and Collumns” (RxC – статистика, Roff P.; Bentzen P., 1989). 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 χ^2 с поправкой Йейтса.

Построение таблиц и рисунков проводили с использованием пакета программ «Microsoft Office 2010».

ГЛАВА 3. МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КИСТ ПРИ ПЕРВИЧНОМ И РЕЦИДИВНОМ ЭХИНОКОККОЗЕ ПЕЧЕНИ

3.1. Локализация, количество, размеры и фаза жизнедеятельности кист у больных первичным и рецидивным эхинококкозом печени

Проведенное *на первом этапе* работы ретроспективное исследование клинического материала за 1998 – 2012 годы (n=300) показало, что в исследуемой нами группе пациентов, лица в возрасте от 21 до 40 лет составляли около половины выборки (42,3%) и более $\frac{3}{4}$ - лица от 21 до 60 лет (76,3%), то есть трудоспособного возраста, что доказывает социальную значимость проблемы эхинококкозов в Башкортостане. Количество мужчин было не намного больше, чем женщин (57,3% против 42,7%; $p>0,05$). Половозрастной состав пациентов был сопоставим с исследованиями других авторов [32, 109].

Чаще у больных эхинококкозом встречалась солитарная форма поражения (60,7%), в равной степени у мужчин и женщин (31,3% и 29,3%). Множественный эхинококкоз печени у мужчин встречался значительно чаще, чем у женщин (18,3% против 6,3%; $p=0,02$; $\chi^2=5,53$). Сочетанная форма диагностировалась почти в равной степени у мужчин и женщин (7,7% против 7,1%). Эхинококковые кисты чаще локализовались в правой доле печени (74,6%), чем в левой (4,7%; $p=0,005$), что согласуется с данными литературы. Обе доли печени были поражены в 6,0% случаев, сочетанные формы поражения были у 14,7%.

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 материала за 2013 – 2016 годы показало, что количество пациентов в возрасте от 21 до 40 лет было 44,5%. Молодых до 20 лет было - 12,8% и пожилых после

60 лет - 10,4%. В исследуемой выборке большинство (76,8%) составляли лица в возрасте от 20 до 60 лет. Количество женщин было незначительно больше (53,0% против 47,0%; $p > 0,05$), чем мужчин (рисунок 5).

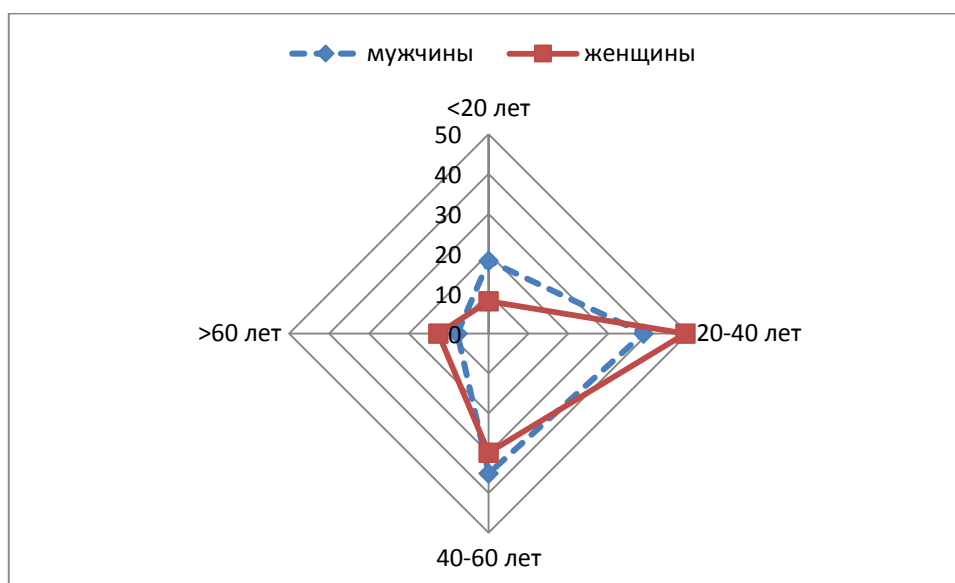


Рисунок 5 – Поло-возрастной состав исследуемой выборки больных эхинококкозом печени

Таким образом, сравнительный анализ поло-возрастного состава пациентов в первом и втором этапах исследований не выявил существенной разницы ($p = 0,43-0,79$; $\chi^2 = 0,07-0,61$).

Солитарный эхинококкоз печени был у 80 (48,8%) пациентов, множественные кисты обнаруживались у 84 (51,2%). Правая доля печени была поражена у 104 (63,4%) больных эхинококкозом печени, а левая - у 17 (10,4%), то есть значительно реже ($\chi^2 = 98,75$; $p = 0,0005$). Что согласуется с литературными данными [108]. Поражение обеих долей печени наблюдалось у 16 (9,8%) больных. Частота РЭП составила 28 (17,1%) случаев.

В обоих этапах исследований было выявлено преимущественное поражение правой доли печени ($p < 0,05$), что согласуется с данными литературы [196]. На первом этапе работы (1998-2012 гг.) выявлено небольшое преобладание солитарной формы эхинококкоза печени, а в исследованиях за 2013-2016 гг. значительно чаще ($p = 0,02$; $\chi^2 = 5,62$) у пациентов обнаруживали 2 и более кист в печени (рисунок б).

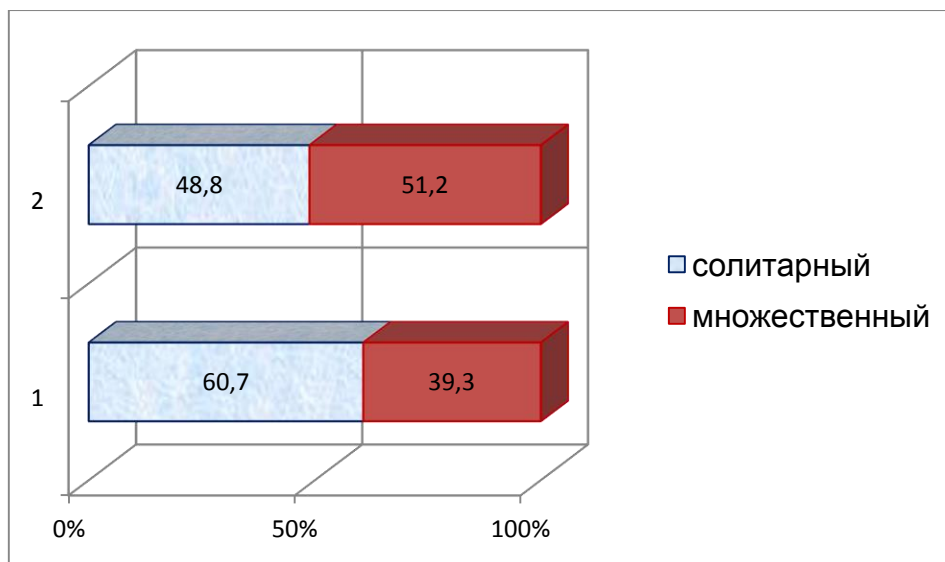


Рисунок 6 – Частота встречаемости солитарного и множественного эхинококкоза печени на 1 и 2 этапах исследований

Полученные данные отличаются от литературных, где показано, что солитарное поражение существенно превышает другие клинические формы эхинококкоза печени [36, 196]. Высокая частота множественного эхинококкоза в нашей выборке, вероятно, связана с тем, что в РКБ поступают пациенты из РБ с наиболее тяжелыми формами заболевания.

На втором этапе исследований выявлено, что среди пациентов с РЭП множественные эхинококковые кисты были у 23 (82,1%) больных, что существенно больше, чем у пациентов с ПЭП ($\chi^2=11,47$; $p=0,002$) (рисунок 7).

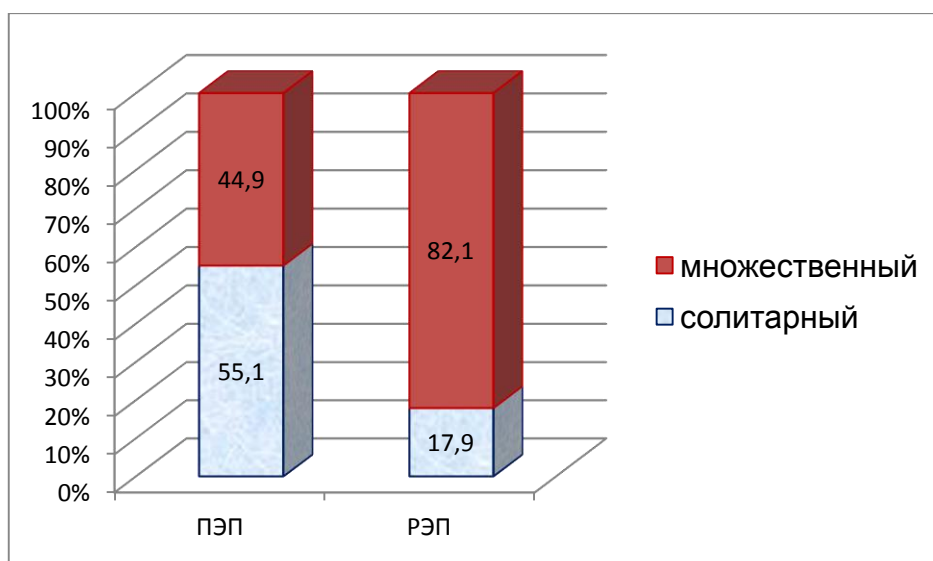


Рисунок 7 – Частота встречаемости солитарного и множественного эхинококкоза печени у пациентов с ПЭП и РЭП

Провели сравнительный анализ размеров эхинококковых кист у пациентов с ПЭП (n=136) и РЭП (n=28). Существенной разницы частоты встречаемости малых, средних и больших размеров кист у пациентов с ПЭП и РЭП не выявили ($p=0,22-0,67$; $\chi^2=0,18-1,47$). Более чем половина кист имели средние размеры (n=83; 50,6%). Среди них у пациентов с ПЭП и РЭП количество средних кист было почти равным (50,0% против 53,6%, $p>0,05$). У больных ПЭП несколько чаще, чем у больных с РЭП, встречались кисты больших (38,2% против 32,1%) и гигантских размеров (5,9% против 3,6%), но без статистически значимой разницы ($p>0,05$).

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 (рисунок 8).

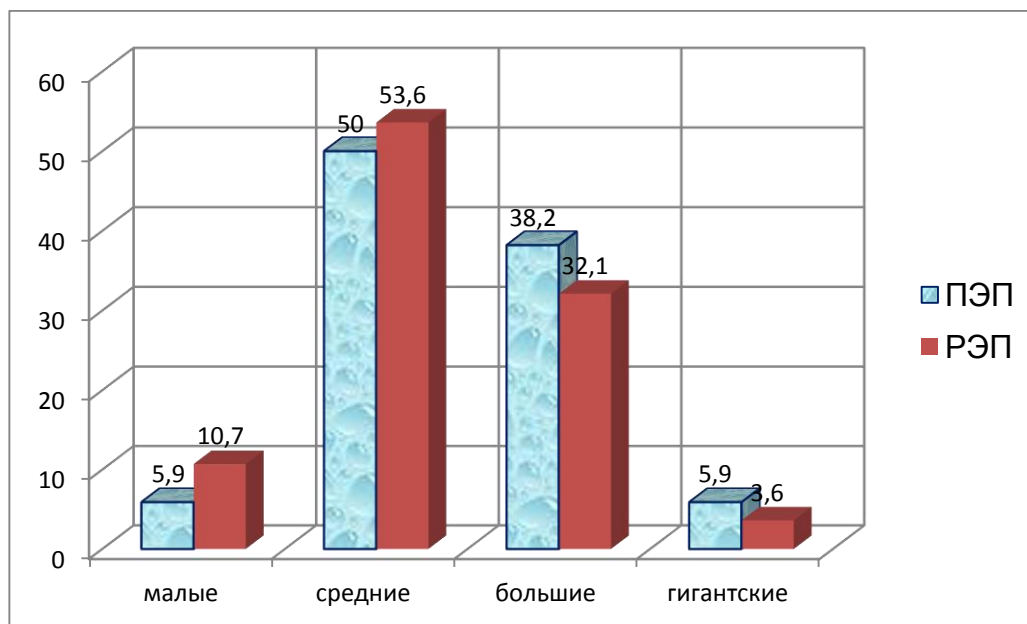


Рисунок 8 – Частота встречаемости малых, средних, больших, гигантских кист печени у пациентов с ПЭП и РЭП

Таким образом, изучение размеров кист у больных с РЭП и ПЭП показало, что чаще диагностировали заболевание, когда кисты достигали размеров - более 50 мм в диаметре. В этих случаях хирургическое лечение уже становится безальтернативным. Это вероятно связано с тем, что эхинококкоз

протекает длительное время бессимптомно и поэтому поздно диагностируется.

Проведен сравнительный анализ фазы жизнедеятельности кист при первичном (n=136) и рецидивном (n=28) эхинококкозе печени. Эхинококковые кисты у больных ПЭП распределили по фазам жизнедеятельности в соответствии с классификацией Гилевича М.Ю. (1987) [28]:

I – живые кисты, с прозрачным жидким содержимым 23 (16,9%);

IIА – кисты в фазе ранних «посмертных» изменений, содержащие дочерние пузыри 37 (27,2%);

IIБ - кисты в фазе поздних «посмертных» изменений, помутнением жидкого содержимого, иногда с обызвествлением капсулы 62 (45,6%);

III – нагноившиеся кисты, иногда с прорывом содержимого 14 (10,3%).

У пациентов с ПЭП наибольшее количество кист было выявлено во IIБ фазе жизнедеятельности (при множественном эхинококкозе учитывали состояние самой старой кисты). Наименьшее количество составляли кисты III фазы (рисунок 9).

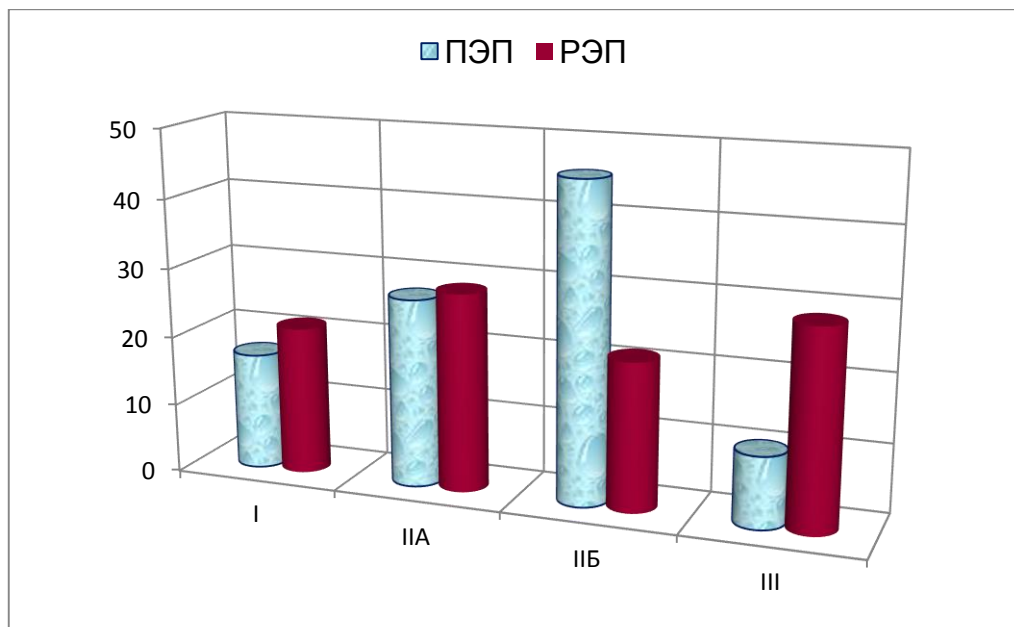


Рисунок 9 – Частота встречаемости кист печени в I, IIА, IIБ, III фазах жизнедеятельности у пациентов с ПЭП и РЭП (при множественном эхинококкозе учитывали состояние самой старой кисты)

Соответственно при РЭП (n=28) в I фазе было 6 (21,4%), во ПА – 8 (28,6%), во ПБ – 6 (21,4%) и III – 8 (28,6%) кист.

Количество кист в I, ПА и III фаз частотой существенно не отличались у пациентов с РЭП от ПЭП ($p=0,76-1,00$; $\chi^2=0,00-0,08$). Значительно больше было кист во ПБ фазе у больных ПЭП, чем у больных с РЭП ($p=0,03$; $\chi^2=4,63$). 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 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 [24, 32].

РЭП чаще развивался у пациентов после солитарного ПЭП, имеющих кисты ПБ и III фазы жизнедеятельности. Среди них в 64,3% случаев РЭП развивался после ПЭП с кистами ПБ фазы жизнедеятельности.

Проведен анализ частоты РЭП за 2005 – 2014 гг. по данным медицинских карт стационарных больных РЦХГ. В 2005 г. у 21,3% наблюдался РЭП; в 2008 – 18,2%; в 2011 – 19,5%; в 2014 – 17,1% (рисунок 10).

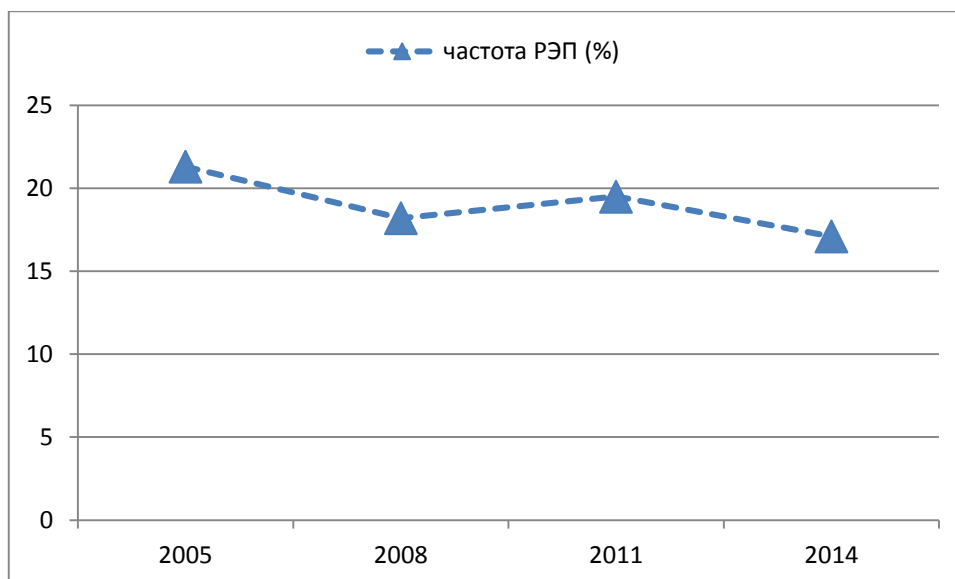


Рисунок 10 – Частота РЭП за 2005 – 2014 годы

Выявлено, что показатель частоты рецидивов в последние годы приобрел тенденцию к снижению ($p>0,05$).

Частота рецидивов на II этапе исследований (2013-2016 гг.) уменьшилась на 2,2% по сравнению с 1998 – 2012 годами (17,1% против 19,3%; $\chi^2=0,23$; $p=0,64$).

Таким образом, исследования **на первом и втором этапах** в динамике показали, что за последние годы (2013-2016 гг.) в РЦХГ чаще стали поступать (чем за 1998-2012 гг.) больные с множественными кистами в печени. Сравнительный анализ показал, что 2 и более кист чаще выявлялись у больных с РЭП, чем с ПЭП. Обращает внимание, что пациенты поступают часто с кистами средних и больших размеров, а в этих случаях хирургическое лечение уже становится безальтернативным. Исследование в динамике показало, что за последнее десятилетие показатель частоты рецидивов приобрел тенденцию к снижению.

3.2. Характеристика морфофизиологии кист у больных эхинококкозом печени

Обнаружение отличий разных по этиологии рецидивных кист между собой имеет важное значение для выявления причины повторного заболевания. Нами проведен сравнительный анализ морфологического строения 18 кист у пациентов с ПЭП и 17 – у больных с РЭП. При исследовании оболочки пузырей во всех случаях определяли характерную для эхинококковых личинок белый хитиновый слой снаружи, изнутри выстланный герминативными клетками. Толщина хитина была разной: от 2 до 7 мм при ПЭП и 2-5 мм при РЭП. Проведено исследование плодоносности эхинококковых пузырей, полученных от больных с ПЭП и РЭП. В исследованной выборке все кисты были фертильны (100%).

Проведено микроскопическое исследование внутреннего содержимого кист. Все кисты имели зародышевые элементы. Выводковые капсулы были с протосколексами, прикрепленными к ней герминативными ножками.

Свободные протосколексы были двух типов: вывернутые (эвагинированные) и ввернутые (инвагинированные), с двигательной активностью и без (рисунки 11, 12, 13).

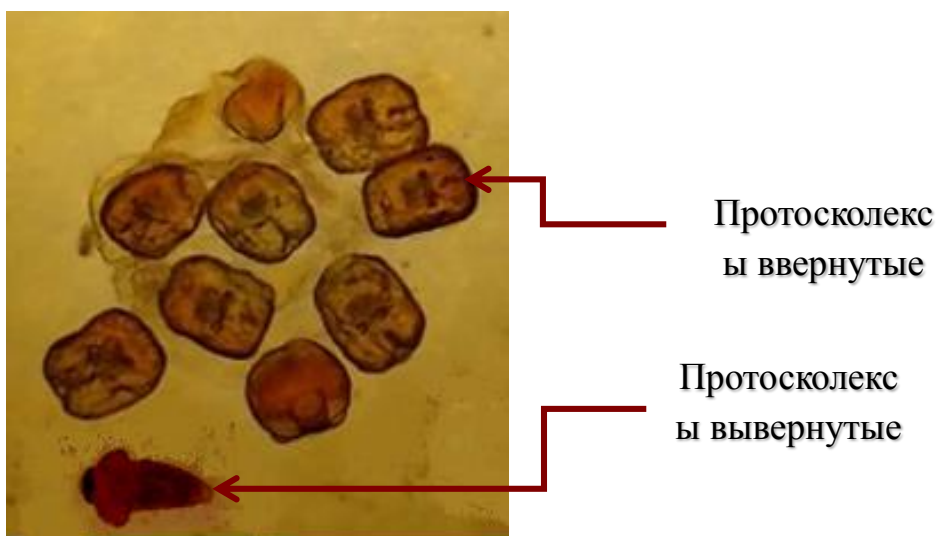


Рисунок 11 - Протосколексы овальной формы: ввернутые и вывернутые (ув. $\times 400$, окраска раствором Люголя)

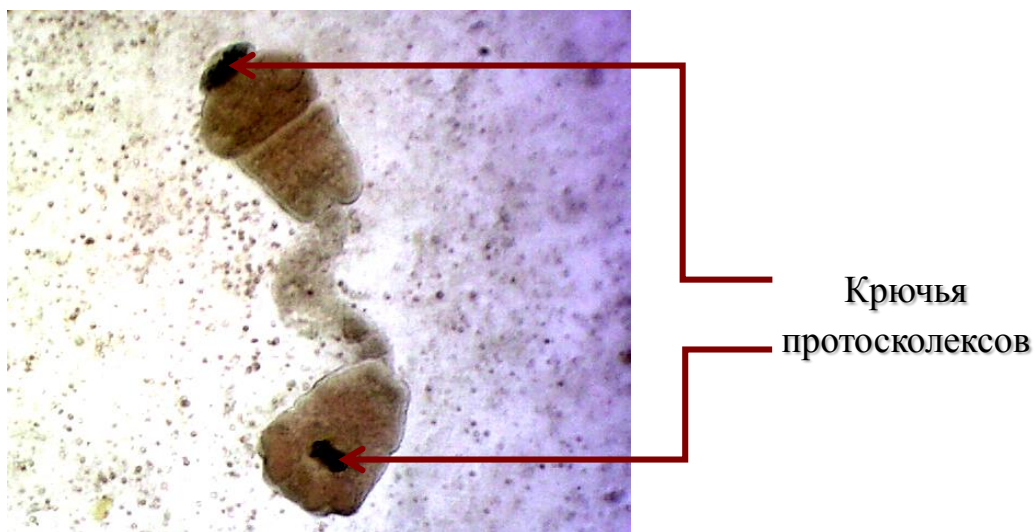


Рисунок 12 - Протосколексы вывернутые (сверху) и ввернутые (снизу), прикрепленные герминативными ножками к фрагменту выводковой капсулы (ув. $\times 900$, окраска раствором Люголя)

Инвагинированные протосколексы имели овальную форму. Длина была больше, чем ширина. Длина ввернутых протосколексов составляла 125-145 мкм, длина эвагинированных протосколексов была 170-210 мкм, что согласуется с данными литературы [39].

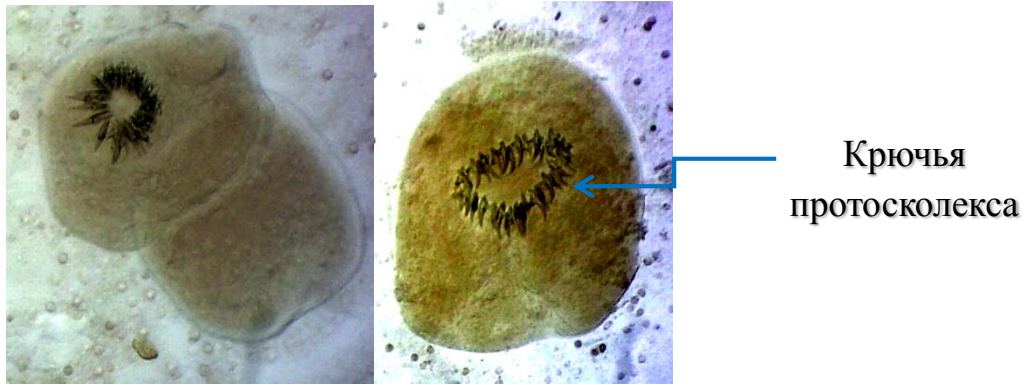


Рисунок 13 – Вывернутый (слева) и ввернутый (справа) протосколексы из пузырной жидкости с двигательной активностью (ув. $\times 900$, окраска раствором Люголя)

Для сравнительного анализа было подсчитано процентное отношение эвагинированных к общему числу (эвагинированных + инвагинированных) протосколексов в кистах, полученных от пациентов с ПЭП и РЭП. Соотношение этих элементов в разных кистах значительно отличалось как при ПЭП (от 2% – до 34%), так и при РЭП (от 4% – до 28%) и выделить существенную разницу между первичными и рецидивными кистами, а также между разными рецидивными кистами не представилось возможным.

В 11 (61,1%) исследуемых первичных ($n=18$) и в 14 (82,3%) рецидивных ($n=17$) кистах обнаружены дочерние пузыри (рисунок 14).



Рисунок 14 - Дочерние пузыри и хитиновая оболочка кисты

Доля кист с дочерними пузырями у больных с РЭП была незначительно больше, чем у пациентов с ПЭП ($p=0,63$; $\chi^2=0,23$). В одном материнском пузыре они могли иметь разные размеры (рисунок 15).



Рисунок 15 - Дочерние пузыри из одной рецидивной кисты печени

Число дочерних пузырей в материнских кистах было разным (в некоторых кистах более 10). Существенной разницы в количестве дочерних пузырей между кистами у больных с ПЭП и РЭП не выявлено ($p>0,05$).

Поскольку инвазионными началами эхинококкового пузыря являются протосколексы, то определение их жизнеспособности имеет важное значение для профилактики рецидивов. Проведено вычисление процента жизнеспособных протосколексов (соотношение числа жизнеспособных протосколексов к общему числу подсчитанных протосколексов). В кистах, выделенных от больных ПЭП этот показатель 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 ($p>0,05$).

Таким образом, на основании изучения макро- и микроскопического строения эхинококковых пузырей и их содержимого статистически значимые отличия между разными рецидивными кистами не выявили. Значит, морфологические исследования мало информативны для дифференциации рецидивных кист.

3.3. Дифференциация рецидивных кист на основе молекулярно-генетических исследований гена *cox1 E. granulosus*

Дифференциация рецидивных кист (метастатической, резидуальной, имплантационной, реинвазионной) по происхождению имеет значение при выборе метода хирургического лечения и является необходимым для проведения адекватной профилактики. Например, опеределение метастатической причины возникновения кист является прямым показанием для выполнения радикальных операций, к которым относятся перицистэктомии и атипичные резекции [24]. Обнаружение реинвазивной природы рецидива - характеризует неблагоприятную эпидемиологическую обстановку, а, значит, необходимость улучшить санитарно-гигиеническую мероприятия.

Проведенный анализ литературы показал наличие генетических отличий внутри вида *E. granulosus* [126, 129, 142, 170]. Выявлено, что полиморфизм может быть обусловлен одиночными заменами нуклеотидов или делециями даже в маркерных участках ядерных и митохондриальных генов [142, 144]. Генетические перестройки, которые возникают в результате мутаций и комбинативной изменчивости, лежат в основе внутривидовой вариабельности *E. granulosus*.

На основании этих данных было предложено делить этот вид на биологические варианты (генотипы, штаммы): *G1* - common, domestic sheep, *G2* - Tasmanian sheep, *G3* - buffalo, *G4* - *E. equinus*, *G5* - *E. ortleppi*, *G6* - camel, *G7* - pig, *G8* - cervid 'northern form', *G9* - human, *G10* - Fennoscandian cervid. Путем секвенирования авторами были обнаружены изменения нуклеотидной последовательности генов еще и внутри каждого штамма, которые регистрировали в Международной базе данных "GenBank". Так наиболее распространенный в мире штамм *G1* [138, 140, 186, 187] разделили на *G1^A*, *G1^B*, *G1^C*, *G1^D*, *G1^E* и другие генотипы.

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. Исследований в этом направлении мы в отечественной и зарубежной литературе не обнаружили.

Учитывая генетическую вариабельность эхинококка, нами разработан способ дифференциации разных по происхождению кист (патент на изобретение РФ №2591807 от 23.06.16). Он основан на сравнении нуклеотидной последовательности маркерного фрагмента гена *cox1* у первичной (материнской) кисты с рецидивной при помощи ПЦР-ПДРФ анализа. Затем этот способ был нами усовершенствован. Для настоящего исследования был использован способ дифференциации генотипов эхинококка, основанный на сравнении длины ПЦР-продуктов маркерного фрагмента гена *cox1* первичной (материнской) кисты с рецидивной путем использования разных праймеров №1 (предложенных Bowles J., 1993 [118]) и №2 (Буйдаковым В.М. и др., 2010 [18]).

Нами проведен молекулярно-генетический анализ маркерного фрагмента гена *cox1* эхинококковых пузырей, полученных во время операции у 18 больных с ПЭП. От всех кист выделили ДНК и провели ПЦР-анализ. После применения в ПЦР праймеров №1 получены амплифицированные фрагменты ДНК от всех образцов. Далее все образцы ДНК подвергли ПЦР, используя праймеры №2, и на электрофореграмме обнаружили амплификаты только от 11 исследуемых образцов ДНК. Следовательно, эти 11 кист имели «нормальный» генотип, а другие 7 – генетически отличающийся. Таким образом, среди исследуемых образцов было не менее двух полиморфных вариантов *E. granulosus*: с «нормальным» и «измененным» генотипом. У 3 пациентов (из 18 наблюдаемых на данном этапе исследований) развился РЭП. После операции рецидивные эхинококковые кисты были взяты на ПЦР-анализ. Полученные результаты демонстрируются следующими примерами.

Пример 1. Пациент Б., 26 лет, обратился в РЦХГ в 2014 г. (история болезни №74036) с жалобами на ощущение тяжести в правом подреберье.

При УЗИ органов брюшной полости в правой доле печени (сегмента VI) выявлено объемное образование размером 95 мм в диаметре, неоднородной структуры, смешанной эхогенности, с четкими контурами. Больной оперирован, выполнена эхинококкэктомия. Взят на молекулярно-генетический анализ фрагмент герминативной оболочки эхинококковой кисты. Проведен описанный выше способ ПЦР-анализа с праймерами №1. На электрофореграмме обнаружены фрагменты ДНК длиной 444 пн. Затем проведен ПЦР с праймерами №2 и получены фрагменты длиной 406 пн. Следовательно, первичная киста имела «нормальный» генотип.

Через год пациент обратился с теми же жалобами. При УЗИ в правой доле печени (сегмента VII) выявлено объемное образование размером 58 мм. Больной оперирован. Взят на анализ фрагмент герминативной оболочки эхинококковой кисты. Проведен описанный выше способ ПЦР-анализа. Молекулярно-генетический анализ рецидивной кисты показал наличие на электрофореграмме амплифицированных фрагментов ДНК при использовании праймеров №1 и отсутствие – при использовании праймеров №2. Следовательно, рецидивная киста имела отличающийся от первичной кисты генотип.

Сравнение результатов исследований в данном клиническом случае показало, что ДНК клеток первичной и рецидивной кист имеют молекулярно-генетические различия, а значит, и разную природу происхождения. На основании этих данных можно утверждать, что причиной рецидива не является имплантационная или метастатическая киста. Учитывая, что реинвазивная киста не может так быстро вырасти, то допустимо предположить резидуальную природу возникновения РЭП.

Пример 2. *Пациент А., 45 лет, обратился в клинику РЦХГ в 2013 г. (история болезни №06751) с жалобами на боли в области правого подреберья. При УЗИ органов брюшной полости в правой доле печени (сегмента VIII) выявлено объемное образование с диаметром 87 мм неоднородной структуры, смешанной эхогенности, с четкими контурами.*

При осмотре и физикальном исследовании по системам органов других патологических изменений не выявлено. Больной оперирован, выполнена эхинококкэктомия. Киста имела в полости дочерние пузыри и мутное жидкое содержимое. Взята на анализ фрагмент герминативной оболочки эхинококковой кисты. Проведен описанный выше способ ПЦР анализа. На электрофореграмме обнаружены фрагменты ДНК после применения праймеров №1 и отсутствие – при использовании праймеров №2.

Через 2,5 года этот пациент обратился с теми же жалобами. При УЗИ в правой доле печени (сегмента VI) выявлено 2 объемных образования размерами 53 и 45 мм в диаметре. Больной оперирован. Взяты на исследование фрагменты герминативной оболочки эхинококковых кист. Проведен описанный выше способ ПЦР-анализа.

Сравнение результатов анализа образцов ДНК из первичной и рецидивных кист у данного пациента показал на их молекулярно-генетическое сходство. На основании полученных данных можно предположить метастатическую или имплантационную природу происхождения рецидива у данного пациента.

Предложенный способ молекулярно-генетического анализа легко выполним в любой современной лаборатории, экономичен и поэтому может быть использован для выявления природы происхождения рецидивных кист. Например, обнаружив при помощи ПЦР-анализа различия генотипов эхинококковых пузырей при ПЭП и РЭП можно утверждать, что рецидив не имеет имплантационную природу происхождения, обусловленную диссеминацией зародышевых элементов из-за нарушения принципов апаразитарности во время первой операции.

РЕЗЮМЕ ПО ГЛАВЕ 3

Таким образом, исследования в динамике показали, что за последнее десятилетие показатель частоты рецидивов приобрел тенденцию к уменьшению (снижение составило 2,2%). Выявлено, что за последние годы

(2013-2016 гг.) в РЦХГ чаще стали поступать (чем за 1998-2012 гг.) больные с множественными кистами в печени. На основании изучения макро- и микроскопического строения эхинококковых пузырей и их содержимого статистически значимые отличия между разными рецидивными кистами не выявили. Значит, морфологические исследования мало информативны для дифференциации рецидивных кист. Поэтому был проведен генетический анализ, который позволил дифференцировать рецидивные кисты.

Установлено, что рецидивные кисты могут иметь различную локализацию, размеры, причину возникновения, находиться в любой фазе жизнедеятельности, и для раннего предупреждения повтора этого тяжелого заболевания необходим универсальный метод профилактики, к которому в настоящее время можно отнести химиотерапию.

ГЛАВА 4. ПРОФИЛАКТИКА РЕЦИДИВА ОДНОКАМЕРНОГО ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ

Отношение к эхинококкозу печени как к исключительно хирургической патологии, привело к тому, что в утвержденном стандарте медицинской помощи отсутствует схема противорецидивной химиопрофилактики и диспансерного наблюдения больных [38].

4.1. Химиопрофилактика рецидива эхинококкоза печени

С 1983 г. в мире, с 1996 г. в России и по настоящее время применяют противогельминтный препарат альбендазол для лечения эхинококковых кист размерами менее 5 см и противорецидивной профилактики после оперативного лечения. Это положение закреплено и в резолюции конгресса Ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ (2014 г.). Альбендазол назначается в дозе 10-20 мг/кг веса в сутки, количество курсов 3-10 с перерывом в 14-15 дней [16, 78, 105]. Эта схема согласуется с предложенной Horton (1989) и одобренной ВОЗ.

Проведенный анализ литературы показал, что альбендазол, попадая в организм человека, не оказывает прямого действия, а быстро подвергается биотрансформации [111, 166, 198]. В настоящее время известно, что в организме человека альбендазол (АБЗ) превращается в альбендазол-сульфоксид (АБЗ-СД), обладающий противогельминтным действием, далее метаболизируется в альбендазол-сульфон (АБЗ-СН) - не имеющий биологической активности. Затем АБЗ-СН гидроксилируется и большая часть выводится с желчью, часть с мочой. В основном катализирует процесс превращения в АБЗ-СД цитохром СYP3A4. Ген, кодирующий СYP3A4, не имеет полиморфных вариантов, значимо влияющих на фармакокинетику, и у всех людей этот цитохром функционирует почти одинаково. Поэтому этот этап биотрансформации мы не рассматривали.

Преобразование АБЗ-СД в АБЗ-СН обеспечивает изоформа цитохрома Р450 СYP1A2, функционирующая в основном в клетках печени (рисунок 16).

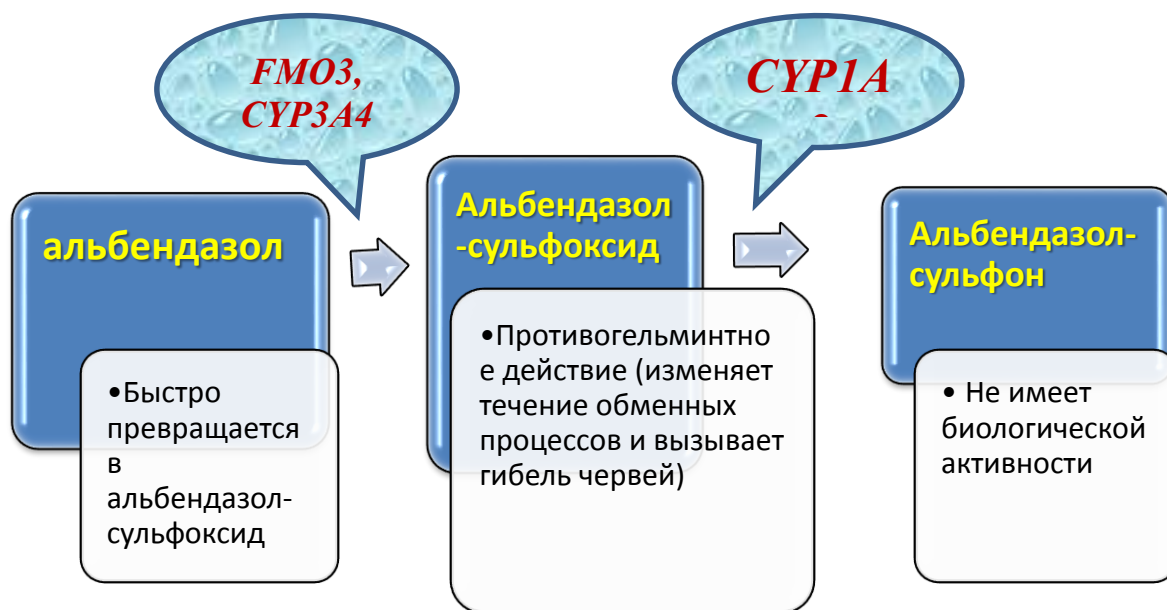


Рисунок 16 – Схема биотрансформации альбендазола в клетках печени

Изучена вариабельность гена *CYP1A2* в популяциях людей и доказано ее влияние на метаболизм лекарств [41]. Одним из наиболее изученных и функционально значимых является полиморфизм 1 интрона *1F(C-163A) [97, 141]. Установлено, что этот полиморфизм приводит к существенному изменению каталитической активности цитохрома *CYP1A2* и увеличивает его индуцибельность [8, 179].

Проведено исследование эффективности профилактики рецидивов эхинококкоза печени альбендазолом у больных, 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 принимавших альбендазол по стандартной схеме: 10-15 мг/кг веса в сутки (не более 800 мг в сутки), три курса по 28 дней с перерывом 14 дней.

В основную группу вошли 57 больных эхинококкозом печени, которым был рекомендован альбендазол по дифференцированной схеме, с учетом генотипа. Для определения схемы химиотерапии альбендазолом в основной группе проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфизма

*1F(C-163A) гена *CYP1A2* методом ПЦР-ПДРФ анализа. Распределение генотипов представлено на рисунке 17.

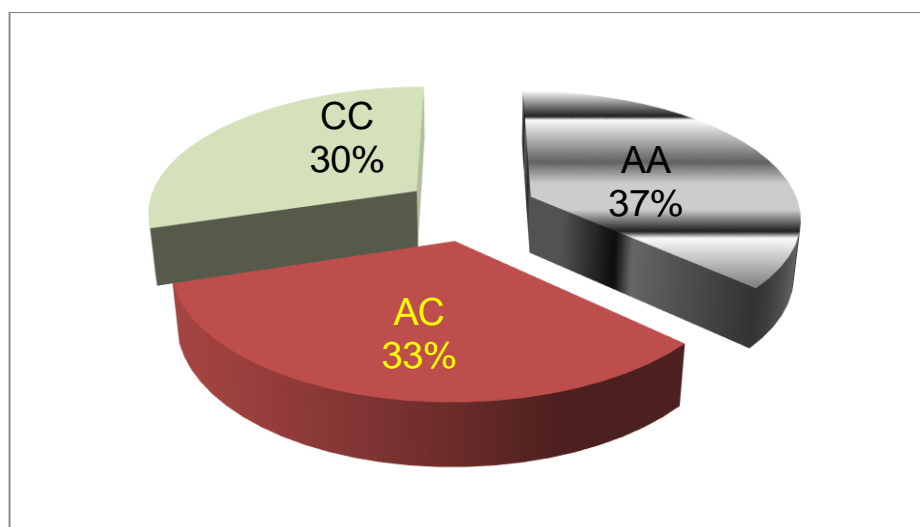


Рисунок 17 - Распределение генотипов (AA, AC, CC) полиморфизма *1F(C-163A) гена *CYP1A2* больных эхинококкозом печени в основной группе

В основной группе пациентов обнаружены генотипы (таблица 10): *CYP1A2F1*AA* (AA) - 21 (36,8%), *CYP1A2F1*AC* (AC) – 19 (33,4%), *CYP1A2F1*CC* (CC) – 17 (29,8%).

Таблица 10 - Распределение генотипов полиморфизма *1F(C-163A) гена *CYP1A2* больных эхинококкозом печени в основной группе

Генотипы	Фенотипы	Частота встречаемости
<i>CYP1A2F1*AA</i>	«быстрый» (ultraextensive metabolizers, UM)	21 (36,8%)
<i>CYP1A2F1*AC</i>	«нормальный» (extensive metabolizers, EM)	19 (33,4%)
<i>CYP1A2F1*CC</i>	«нормальный» (extensive metabolizers, EM)	17 (29,8%)

Генотип AA - соответствует фенотипу «быстрого» (ultraextensive metabolizers, UM) метаболизма и встречается с частотой 33% у представителей европейской, 49-57 - африканской и 61% - у представителей азиатской популяции [8, 49]. Генотип CC - гомозигота «дикого» типа, определяет

нормальную скорость метаболизма (extensive metabolizers, EM). И поскольку *A* аллель гена аутосомно-рецессивный, то генотип *AC* тоже определяет фенотип EM [27].

У больных эхинококкозом печени из основной группы, имеющих генотип *AA* и «быстрый» фенотип - UM, альбендазол-сульфоксид (обладающий антигельминтным действием) быстро метаболизируется в альбендазол-сульфон, поэтому препарат будет оказывать непродолжительное терапевтическое действие. Лицам с таким генотипом рекомендовали химиотерапию в максимальной допустимой [78] суточной дозе - 20 мг/кг веса в сутки, 3-10 курсов в год (в зависимости от наличия осложнений) по 28 дней с перерывами на 14 дней. После каждого курса лечения им проводили контрольное обследование, которое включало УЗИ, клинические данные, биохимические показатели функционального состояния печени (АЛТ, АСТ).

Пациентам с генотипом *CC* и *AC*, имеющим фенотип EM – «нормального» метаболизма, назначена профилактика рецидива в стандартной минимальной дозе 10-15 мг/кг веса в сутки 3-10 курсов (в зависимости от наличия осложнений) по 28 дней с перерывами на 14 дней [70]. После каждого курса лечения проводили контрольное обследование, которое включало УЗИ, клинические данные.

Пациентам группы сравнения также проводили контрольное обследование. Через 0,5 – 2,5 года развился рецидив заболевания у 4 пациентов из основной и 24 пациентов из группы сравнения, всего 28 (17,1%) случаев рецидива из 164 обследуемых больных эхинококкозом печени (рисунок 18).

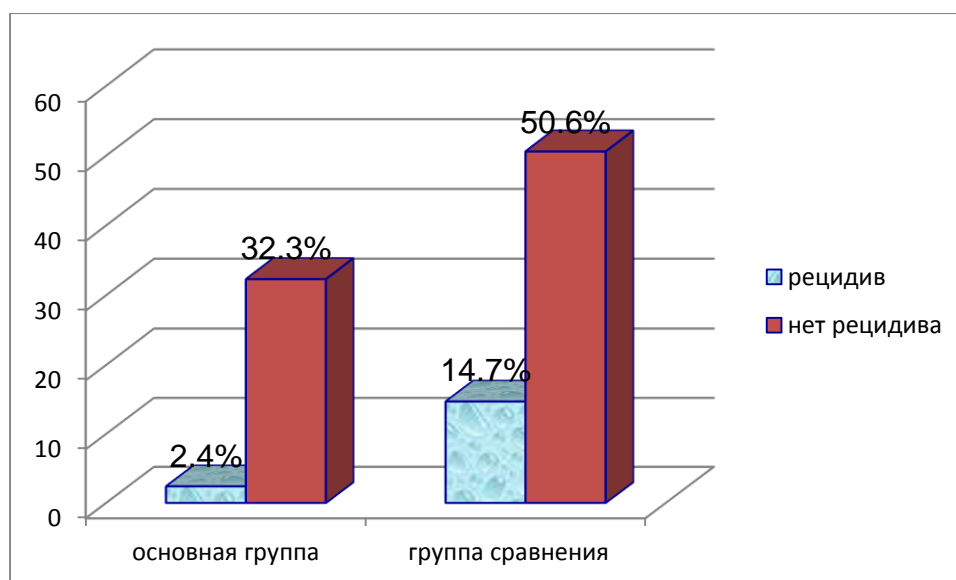


Рисунок 18 - Распределение больных с рецидивом эхинококкоза печени в основной группе и группе сравнения

Среди больных с рецидивом заболевания из основной группы 1 пациент имел генотип *AA*, 2 – *AC*, 1 – *CC*.

Таким образом, в группе сравнения частота рецидива была больше, чем в основной группе, в 3,2 раза ($\chi^2=5,20$; $p=0,02$). Значит, тестирование генов метаболизма альбендазола у больных позволяет прогнозировать недостаточность химиотерапии, высокий риск развития рецидива после оперативного удаления первичной эхинококковой кисты и соответственно – назначить эффективную дозу альбендазола.

Полученные данные согласуются с литературными. Как показывают опубликованные обзоры, химиотерапия альбендазолом полностью эффективна в 10-58% случаев, приводит к улучшению - у 10-51%, неэффективна у 13-37% пациентов [167, 175, 192]. Где также показано, что альбендазол вызывает дегенеративные изменения в кисте в 40-74% случаев. В то же время доказано, что альбендазол-сульфоксид в дозе 200 мкг/мл обладает 100% сколицидной активностью в пробирке [195]. Так было продемонстрировано, что на эффективность препарата в организме человека влияют внутренние факторы.

Есть публикации о высокой эффективности химиотерапии альбендазолом [111]. Например, Бабакулов К.К. и др. (2014) провели лечение

альбендазолом в дозе 800 мг/сут в 3 курса по 28 дней у больных высокой группы риска рецидива эхинококкоза печени (пациенты, в анамнезе которых был прорыв кисты с обсеменением, или имели оставленные мелкие множественные кисты, и др.) [16]. Препарат давали с растительным маслом (жирная пища в 5 раз увеличивает всасывание альбендазола). Отклонений в функциональном состоянии печени (по результатам биохимических анализов крови) не обнаружили и достигли значительного снижения частоты рецидива до 1,7% (2 из 114).

Есть мнение, что результативность альбендазола зависит от возраста и конституции больного эхинококкозом, локализации и морфологии эхинококковых пузырей [105]. Проведенный анализ медицинских карт пациентов, принявших три курса альбендазола после первичного оперативного лечения, поло-возрастной зависимости не выявил. Рецидивные эхинококковые кисты развивались у женщин и мужчин в молодом, среднем, зрелом и пожилом возрасте.

Корреляция аллелей генов цитохромов P450 с особенностями метаболизма лекарств стала очевидной в связи с появлением в последние десятилетия в литературе новых доказательств. Например, разработан высокоэффективный алгоритм выбора дозы варфарина на основе тестирования полиморфизма гена *CYP2C19*. Исследования индивидуальных особенностей каталитической активности ферментов, участвующих в биотрансформации альбендазола у людей, проводили Marques M.P. et al. (2002) [166]. Было выявлено, что в 1 фазе метаболизма альбендазола в основном участвуют цитохромы P450 - CYP3A4 и CYP2C19 [166, 185]. Эти же ферменты осуществляют метаболизм многих (60%) лекарств, гормонов (тестостерона). Поэтому одновременное принятие АБЗ и других препаратов вызывает индукцию этих цитохромов, а возможно и разное действие на мужчин и женщин.

Skuhala T. et al. (2014) указывали на огромный диапазон значений концентрации альбендазол-сульfoxида в крови пациентов (различия между

минимумом и максимумом составляли 25 - 80 раз) [112]. По их данным у пациентов, которые не получали терапию альбендазолом, частота рецидивов составила 16,7%, в то время как не наблюдались рецидивы у больных, получавших химиопрофилактику. Проведенные доказательства убедительно свидетельствовали о том, что более высокие концентрации в плазме крови альбендазол-сульфоксида коррелируют с более низким риском рецидива заболевания [112].

Известно, что цитохромы CYP1A1 и CYP1A2 являются ключевыми ферментами, участвующими в детоксикации ароматических углеводородов (бензопирена), содержащихся в сигаретном дыме и в метаболизме (на 90%) кофеина, содержащегося в чае, кофе [41]. На основании этих данных было сделано заключение, что оценка метаболизма кофеина является надежным тестом для определения активности изоформы цитохрома P450 - CYP1A2 и соответственно функционального состояния печени. Кофеин - единственное соединение, применяемое для фенотипирования CYP1A2 *in vivo*.

Известно, что альбендазол сам индуцирует синтез CYP1A1 и CYP1A2, а значит и образование бензопирена из табачного дыма в организме человека [27, 49].

Поэтому, при химиотерапии альбендазолом вероятно лицам с генотипом «быстрого» UM-метаболизера гена *CYP1A2* необходимо воздержаться от курения (для того чтобы исключить повышенную индукцию цитохрома). Альбендазол способен индуцировать синтез цитохромов CYP1A1 и CYP1A2 на уровне транскрипции, тем самым влияя на метаболизм ксенобиотиков, усиливая их токсичность [127, 151].

Таким образом, фармакологическая эффективность альбендазола зависит от многих факторов, в числе которых генетическая индивидуальность пациентов, воздействие индукторов и ингибиторов (кофеина, ПАУ в составе табачного дыма и других). Изложенные результаты свидетельствуют о необходимости дифференцированного подхода к химиопрофилактике рецидива эхинококкоза.

4.2. Прогнозирование эффективности химиопрофилактики рецидива эхинококкоза печени

Идентификация новых аллелей генов, выяснение роли наследственных факторов в патогенезе заболеваний, индивидуальный подход к больному (диагностике, лечению, профилактике) составляют научную основу молекулярной медицины [27].

Каждый человек обладает уникальными морфологическими, физиологическими и биохимическими свойствами, обусловленными генетическим полиморфизмом. Наиболее существенный вклад вносят в вариабельность индивидуумов однонуклеотидные замены (SNP). В настоящее время идет накопление информации о связи разных аллелей генов с течением заболеваний.

В настоящей работе нами использована информация об участии цитохрома *CYP1A2* в метаболизме альбендазола и о наличии у гена, кодирующего этот фермент, функционально значимых полиморфных вариантов. Проведенные исследования показали, что генетическое тестирование полиморфизма **1F(C-163A)* гена *CYP1A2* у больных эхинококкозом, и обнаружение генотипа «быстрого» метаболизера, укажет на слабую эффективность альбендазола и соответственно – на высокий риск развития рецидива. В соответствии с результатами генотипирования лицам с генотипом UM-метаболизера гена *CYP1A2* была рекомендована химиотерапия альбендазолом в максимально допустимой суточной дозе 20 мг/кг веса, 28 дней, числом курсов – 3-10 (в зависимости от наличия осложнений) и диспансерное наблюдение в течение 5-8 лет под ультразвуковым и серологическим контролем (согласуется с рекомендациями ВОЗ). Поскольку УЗИ, МРТ и ИФА исследования эффективны для диагностики эхинококкоза и широко применяются в практической медицине [92, 103, 183, 210]. Пациентам с генотипом *CC* и *AC* «нормального» метаболизма назначена профилактика рецидива в стандартной минимальной дозе 10-15 мг/кг веса в сутки 3-10 курсов (в зависимости от наличия

осложнений) по 28 дней с перерывами на 14 дней и стандартное диспансерное наблюдение в соответствии с резолюцией конгресса Ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ.

На основании полученных данных разработан способ прогнозирования эффективности химиотерапии эхинококкоза печени альбендазолом (Патент РФ на изобретение №2601902 от 17.10.16).

Известен способ профилактики эхинококкоза альбендазолом в зависимости от тяжести течения (солитарный, множественный), но без учета индивидуальных особенностей метаболизма. Однако эффективность этого подхода составляет 40% - 70% [78]. Предложенную стандартную схему назначения альбендазола (в дозе 10-20 мг/кг веса в сутки, количество курсов 3-10 в год с перерывом в 14-15 дней [78]) на практике используют по-разному, поскольку не разработаны четкие показания. Использование тестирования полиморфизма гена *CYP1A2* у больных эхинококкозом обоснует назначение максимально разрешенной дозы препараты у лиц с высокой активностью метаболизма альбендазола.

Разработанный нами способ использован при составлении алгоритма химиопрофилактики рецидива эхинококкоза печени альбендазолом. Алгоритм химиопрофилактики рецидива эхинококкоза альбендазолом состоит из трех этапов. На **первом этапе** у лиц, с подозрением на эхинококкоз печени, 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 19).

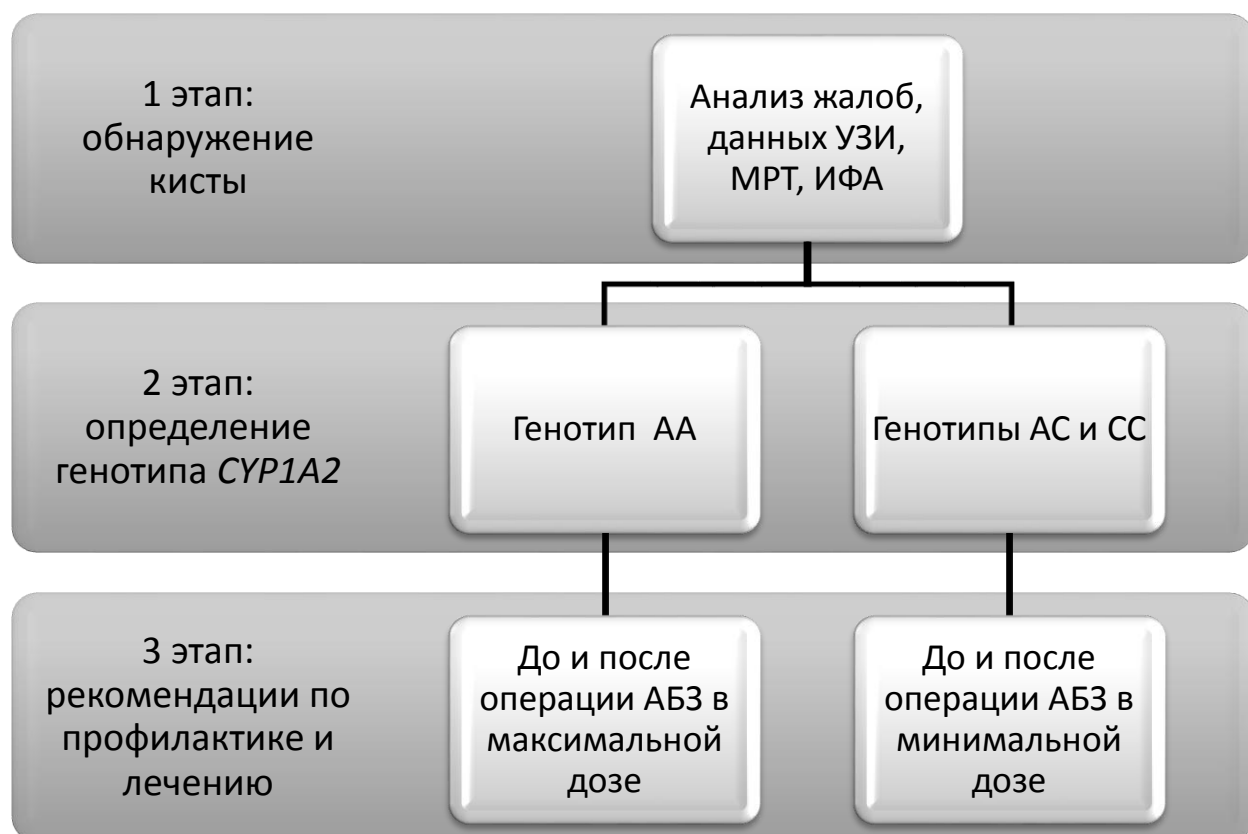


Рисунок 19 – Алгоритм химиопрофилактики и лечения рецидива эхинококкоза печени альбендазолом (АБЗ)

При обнаружении генотипа *AA* – «быстрого» метаболизера обследуемому на третьем этапе назначается максимально разрешенная доза препарата в пред- и послеоперационном периодах для профилактики повторного заболевания эхинококкозом и лечения (резидуальных кист). У пациентов с генотипами *AC* и *CC* назначается стандартная схема альбендазола в пред- и послеоперационном периодах. После лечения пациенты переходят на диспансерное наблюдение по месту жительства (не менее 2 раз в год в течение 3 лет под УЗИ, ИФА контролем и исследованием биохимических показателей функционального состояния печени (АЛТ, АСТ)).

Использование способа профилактики рецидива эхинококкоза демонстрируется следующими клиническими примерами.

Пример 1. Пациентка С. 60 лет, обратилась в клинику в 2012 году (история болезни №26101) с жалобами на боли в области правого подреберья. При УЗИ органов брюшной полости в правой доле печени (сегмента VII) выявлено объемное образование размерами 83 мм неоднородной структуры,

смешанной экзогенности, с четкими контурами. При осмотре и физикальном исследовании по системам органов других патологических изменений не выявлено. Больная оперирована, выполнена эхинококкэктомия. Микроскопически эхинококковая природа кисты была подтверждена. Назначена профилактика рецидива заболевания альбендазолом в дозе 10 мг/кг веса в сутки, 3 курса по 28 дней, с перерывом 14 дней. Генетическое тестирование не проводилось.

Через 2 года пациентка обратилась с теми же жалобами. При УЗИ в правой доле печени (сегмента VI) выявлено объемное образование размерами 65 мм. Проведено исследование по предложенной методике. Установлено: больная является носителем генотипа CYP1A2F1*A/A «быстрого» метаболизера. Традиционная профилактика альбендазолом рецидива эхинококкоза была не эффективной. Пациентке назначен перед и после оперативного вмешательства альбендазол в дозе 20 мг/кг веса в сутки, 5 курсов, с перерывом в 15 дней. После выписки из РЦХГ больная взята под диспансерное наблюдение с УЗИ, ИФА контролем и исследованием биохимических показателей функционального состояния печени (АЛТ, АСТ) каждые 6 месяцев. Наблюдение в течение 1,5 лет признаков повторного рецидива эхинококкоза не выявило.

Пример 2. Пациент Н., 33 лет, обратился в клинику в 2013 году (история болезни №08602) с жалобами на боли в области правого подреберья. При УЗИ органов брюшной полости в правой доле печени (сегмента VI) выявлено объемное образование неоднородной структуры, смешанной экзогенности, с четкими контурами, размером 81 мм. При осмотре и физикальном исследовании по системам органов других патологических изменений не выявлено. Больной оперирован, выполнена эхинококкэктомия. Проведено исследование по предложенной методике. Установлено: пациент является носителем генотипа CYP1A2F1*C/C - «нормального» метаболизера. Назначен альбендазол в стандартной схеме. В отношении эффективности профилактики альбендазолом рецидивных эхинококковых

кист прогноз благоприятный. Через 3 года у пациента при диспансерном наблюдении кист не обнаружено.

РЕЗЮМЕ ПО ГЛАВЕ 4

Таким образом, проведенные исследования показали, что дифференцированный подход к химиотерапии, основанный на анализе индивидуальных особенностей метаболизма альбендазола, необходим для повышения эффективности профилактики рецидива этого тяжелого заболевания печени.

ГЛАВА 5. ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВА ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ В БЛИЖАЙШИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Выбор метода лечения РЭП, его объем зависят от размеров и локализации эхинококковых кист, их количества, наличия осложнений, состояния пациента [44].

5.1. Частота рецидива эхинококкоза печени в зависимости от сроков обнаружения рецидива после хирургического лечения и особенностей течения первичного эхинококкоза

Сроки возникновения РЭП после первичной операции могут быть самыми различными. Ранними считают РЭП в сроки до 3 лет, поздние – развиваются через 3 года и даже могли диагностироваться через 5 лет после хирургического лечения [32].

Проведен анализ сроков обнаружения рецидивных эхинококковых кист после хирургического лечения у пациентов, поступивших в РЦХГ за 2013 – 2016 годы (рисунок 20).

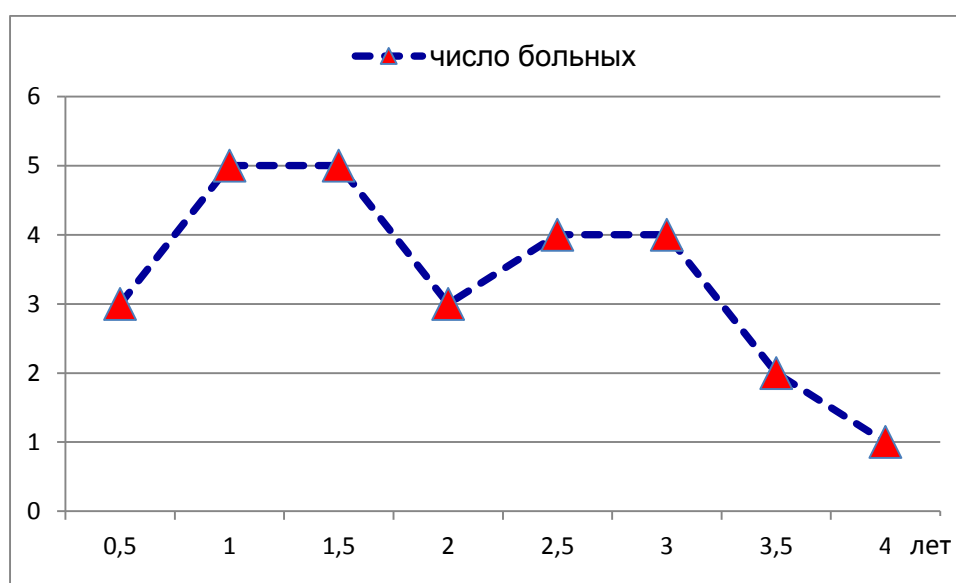


Рисунок 20 - Сроки выявления РЭП (количество лет) у пациентов за 2013 –
2016 годы

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 [24]. Ранние РЭП связывают с резидуальным происхождением, а поздние - с имплантационным, метастатическим или реинвазионным [24]. Такое распределение объясняют быстрым ростом резидуальных и медленным – остальных кист. Среднее увеличение в диаметре кисты считается 1 см/год, но подобных исследований мало [167].

Проведенный анализ данных 28 пациентов с РЭП показал, что рецидивы после первой операции через 3 - 4 года (поздние) были диагностированы у 4 (14,3%) больных, а ранние – до 3-х лет после хирургического лечения у 24 (85,7%). Чаще всего РЭП выявляли в первые полтора года 13 (46,4%) после операции.

Изучили распределение больных с РЭП (n=28) в зависимости от сроков обнаружения рецидива и от локализации первичной кисты. РЭП развивался в 67,9% случаев у пациентов, у которых первичная киста была локализована только в печени (первично-солитарный и первично-множественный). У 32,1% пациентов с РЭП локализация первичных кист была в печени и других органах (первично-сочетанный эхинококкоз). Значит, рецидивы чаще ($p=0,01$; $\chi^2=5,78$) развивались в печени, если у больных первичная киста также локализовалась в печени. По данным Назырова Ф.Г. и др. (2011) рецидивные кисты печени в 26,6% случаев обнаруживались в том же сегменте, где локализовалась первичная киста, а в отдалении - у 63,4% пациентов [89]. Эти результаты позволили им предположить, что роль имплантационного и метастатического происхождения рецидива не так велика, как резидуального. Распределение больных в зависимости от сроков обнаружения рецидивной эхинококковой кисты в печени и локализации первичной кисты, представлены в таблице 11. Таблица 11 - Сроки обнаружения рецидивной эхинококковой кисты в печени у больных (n=28) в зависимости от локализации первичной кисты

Сроки обнаружения рецидивной кисты	Число больных с РЭП абс (%)	Локализация первичной кисты абс (%)	
		в печени при солитарном и множественном ПЭП	в разных органах при сочетанном эхинококкозе
<i>В ближайшие сроки (до 3 лет)</i>	24 (85,7)	16 (57,2)	8 (28,6)
<i>В отдаленные сроки (более 3 лет – до 4 лет)</i>	4 (14,3)	3 (10,7)	1 (3,6)
Всего	28 (100)	19 (67,9)	9 (32,1)

Сравнительный анализ распределения больных РЭП в зависимости от сроков обнаружения рецидива и от локализации первичной кисты показал, что и в ближайшие (57,2% против 28,6%) и отдаленные (10,7% против 3,6%) сроки после хирургического лечения рецидивы чаще развивались в печени, если у больных первичная киста также локализовалась в печени. В ближайшие сроки более, чем в отдаленные, РЭП развивался после первично-сочетанного эхинококкоза (28,6% против 3,6%), но разница была статистически не значимой ($p=0,33$; $\chi^2=0,92$). Обращает внимание, что РЭП мало диагностировались в сроки после 3-х лет после ПЭП. Возможно, это связано с тем, что наблюдаются больные с эхинококкозом после операции только 3 года и вероятно этого недостаточно.

Среди исследуемых больных РЭП ($n=28$) у 5 (17,8%) наблюдался солитарный рецидив, у 12 (42,8%) были выявлены 2 или более кист в печени, у 11 (39,3%) – сочетанная форма РЭП. О высокой частоте множественных кист при РЭП (в отличие от ПЭП) отмечено в работе В.А. Вишневого и др., 2011

[24]. Однако, есть и противоположные данные, в которых показано преобладание солитарного рецидивного эхинококкоза [14].

Проведен сравнительный анализ частот встречаемости солитарных, множественных и сочетанных РЭП у больных (n=28), которые оперировались по поводу разных видов ПЭП (солитарный, множественный и сочетанный). 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.

Распределение больных (n=28) с солитарным, множественным и сочетанным РЭП в зависимости от особенностей течения первичного эхинококкоза представлены на рисунке 21.

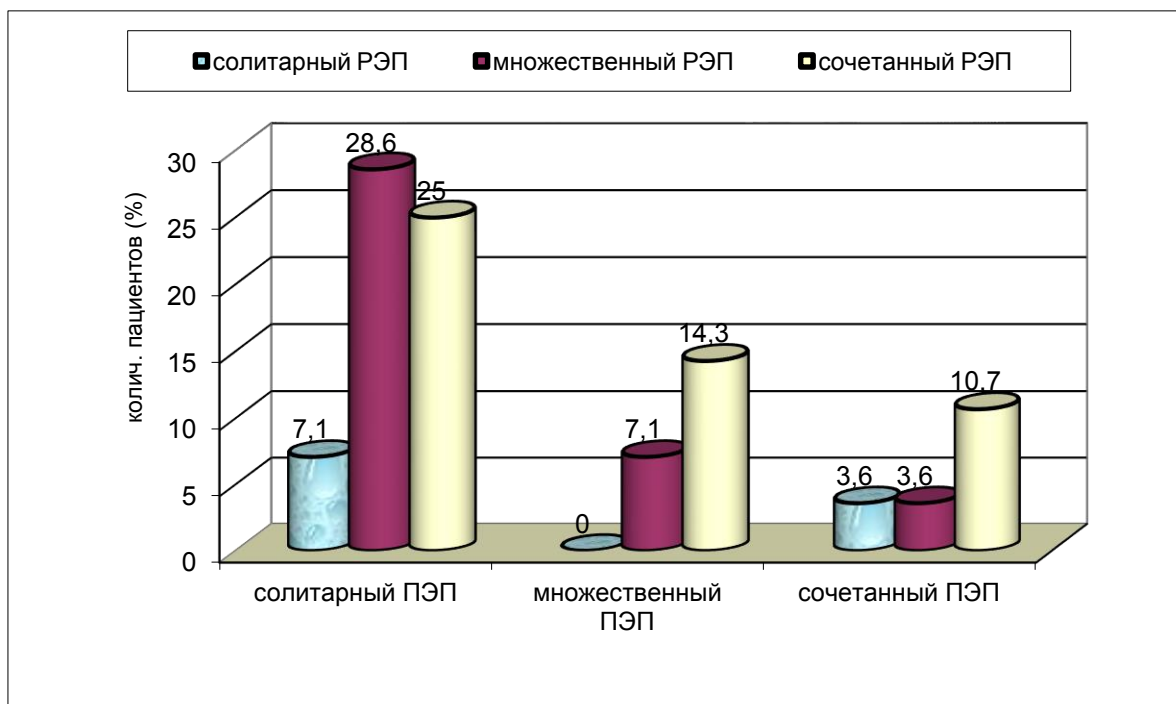


Рисунок 21 - Распределение частот встречаемости (%) солитарных, множественных и сочетанных РЭП у больных разным типом ПЭП

Обращает внимание, что при РЭП часто (39,3% при РЭП и 11,3% при ПЭП; $p=0,002$; $\chi^2=10,86$) встречалась сочетанная форма с внепеченочным поражением брюшной полости, что согласуется с данными литературы [24].

Таким образом, клиническая картина РЭП была более тяжелой, чем ПЭП, поскольку чаще встречались множественные и сочетанные формы, а значит, и оперативное вмешательство было более сложным.

5.2. Хирургическое лечение рецидива эхинококкоза печени

Основным методом лечения РЭП является хирургический. Согласно данным литературы оперативные вмешательства по поводу РЭП травматичнее, наблюдается достоверно большая кровопотеря и послеоперационные осложнения [24]. Выбор показаний к операции, ее характер и объём, необходимость дренирования или ликвидации остаточной полости, способ обработки эхинококковой кисты, остаются предметом дискуссии [61, 120, 128, 178, 192].

Нами разработана собственная классификация видов оперативных вмешательств [74] при эхинококкозе печени. В соответствии с ней нами проведен анализ видов оперативных вмешательств у пациентов с РЭП, поступивших на хирургическое лечение в РЦХГ 2013-2016 годах. Всего были проанализированы 28 протоколов операций, путем выкопировки информации из медицинских карт стационарного больного. Как показало исследование, больным при РЭП были проведены традиционные органосохраняющие эхинококкэктомии (ЭЭ), резекции печени, а также малоинвазивные вмешательства.

Традиционные органосохраняющие хирургические вмешательства (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 (таблица 12).

Таблица 12 - Распределение видов оперативных вмешательств у больных РЭП

Виды оперативных вмешательств	абс (%)
Традиционная органосохраняющая эхинококкэктомия	11 (39,3)
Резекция печени	8 (28,6)
Комбинированное вмешательство	7 (25,0)
Малоинвазивные вмешательства	2 (7,1)
Итого	28 (100)

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 (рисунок 22).

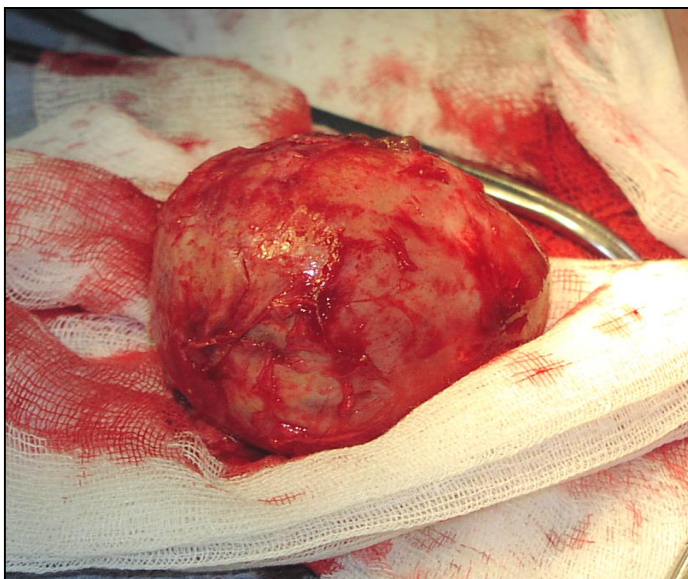


Рисунок 22 – Удаление кисты ПА фазы жизнедеятельности путем «идеальной» эхинококкэктомии

Эхинококкэктомии с аплатизацией остаточной полости дают наименьшее число осложнений [83]. 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 ПА фазе жизнедеятельности, неосложненных, расположением в V и VII сегментах печени) выполнили закрытую эхинококкэктомиию (рисунок 23).

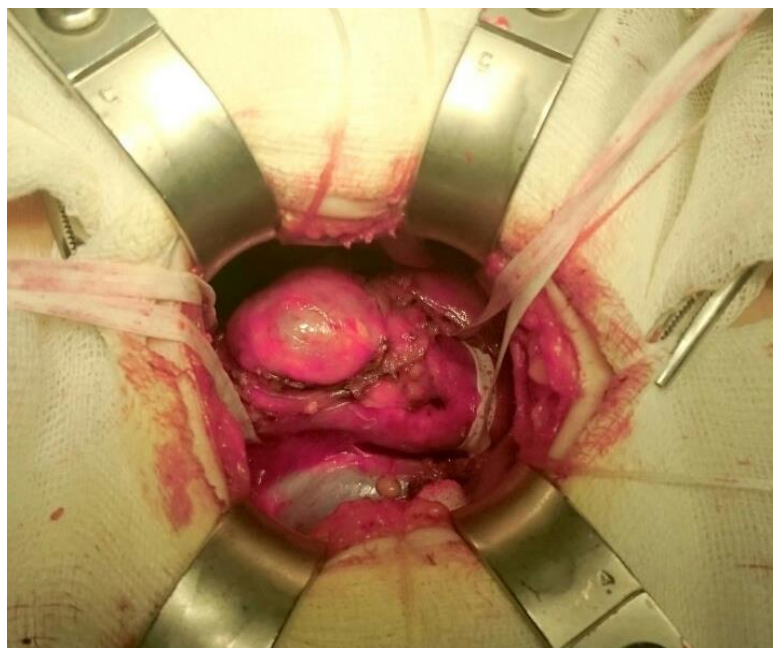


Рисунок 23 – Удаление кисты при традиционной эхинококкэктомии

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 ПЗ фазах жизнедеятельности, расположением в правой или левой, или обеих долях печени.

Доля резекций печени, среди оперативных вмешательств, выполненных у больных с РЭП была больше, чем при ПЭП. Более половины из оперативных вмешательств (53,6%) при рецидивах заболевания составляли резекции и сочетание резекции с традиционной эхинококкэктомией. Возможно потому, что при РЭП чаще встречалась множественная форма заболевания. Эти данные согласуются с мнением многих хирургов о том, что необходимо отдавать предпочтение радикальной хирургии при лечении рецидива эхинококкоза печени [22, 24, 93, 104]. Резекции печени выполнялись при обнаружении признаков обызвествления фиброзной капсулы и множественных близко расположенных к друг другу кистах. При обнаружении больших и гигантских кист печени, когда закрытие остаточной полости вызывало затруднение, также выполняли резекцию печени. Резекции

у больных РЭП выполнялись со вскрытием полости кисты или без (рисунок 24).

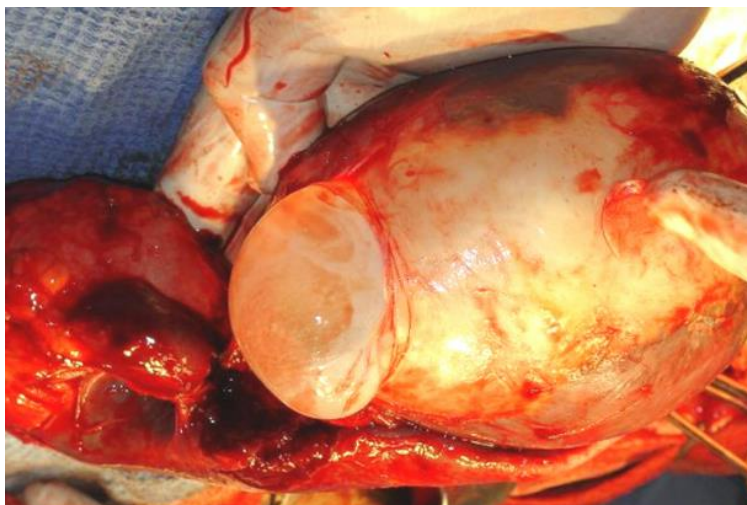


Рисунок 24 – Резекция печени без вскрытия кисты

Атипичную резекцию выполняли в 26,7% случаев, сегментарную – 20,0%. Резекции не выполнялись при расположении кист в области ворот печени или крупных сосудов и при интрапаренхиматозной локализации неосложненных малых и средних кист. Чаще (46,6%) выполняли комбинированное оперативное вмешательство (таблица 13).

Таблица 13 - Распределение видов резекции печени у больных РЭП

Виды резекций печени	Число больных РЭП абс (%)
Резекция печени:	
атипичная	4 (26,7)
сегментарная	3 (20,0)
гемигепатэктомия	1 (6,7)
Комбинированное вмешательство (резекция печени и традиционная эхинококкэктомия)	7 (46,6)
Итого	15 (100)

2 (7,1%) пациентам 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.

Проведен анализ видов оперативного вмешательства в зависимости от размеров и локализации рецидивных кист печени у больных. Проанализировали протоколы 28 операций с характеристикой удаления 37 рецидивных кист печени. Исследования показали, что чаще встречаются рецидивные кисты в правой доле печени средних размеров (54,1%). Операции при кистах правой доли средних размеров проводились разные. Чаще это были традиционные эхинококкэктомии (37,8%).

В ранние сроки после хирургического лечения доля множественного РЭП составила 33,3% и в поздние сроки – 75,0%. При РЭП в поздние сроки после хирургического лечения радикальные операции проводились чаще, чем в ранние сроки (75,0% против 50,0%). Возможно потому, что рецидивные кисты в поздние сроки часто были «мертвыми» или с обызвествленной капсулой.

Доказано, что традиционная эхинококкэктомия чаще сопровождается послеоперационными осложнениями (в том числе рецидивами заболевания), а радикальная (тотальная перицистэктомия или резекция печени) более эффективна в отношении профилактики рецидивов, но характеризуется большим числом интраоперационных осложнений [114, 146, 199].

Проведен анализ протоколов оперативных вмешательств у пациентов с РЭП, где были даны характеристики фаз жизнедеятельности кист (n=28). Состояние жизнедеятельности эхинококковой кисты определяли в соответствии с классификацией М.Ю. Гилевича (1987) [28]: в I фазе находились 6 (21,4%), во IIА – 8 (28,6%), в IIБ – 6 (21,4%) и III – 8 (28,6%) кист (при множественном эхинококкозе учитывали состояние самой старой кисты). Среди них четвертую часть составляли кисты с нагноением. Есть мнение, что после нагноившейся кисты рецидивы редки, имеют резидуальную или метастатическую природу возникновения, а не имплантационную, поскольку гнойное содержимое разрушает зародышевые элементы эхинококкового пузыря [6]. Также обращает внимание, что пациенты поступают часто (17,9%)

рецидивными кистами с обызвествленной капсулой, и в этих случаях радикальное хирургическое лечение уже становится безальтернативным.

Как показал анализ, кисты в фазе I и II чаще (28,6%) оперировались путем традиционной ЭЭ, а IIБ фазы – резекцией (17,9%). Кисты III фазы в 21,4% наблюдений удаляли сочетанием резекции с традиционной ЭЭ (эти кисты чаще встречались при множественном РЭП). Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что при обызвествлении фиброзной капсулы кисты операцией выбора является радикальное вмешательство. При нагноившихся кистах III фазы во время операции эхинококкэктомии в остаточную полость устанавливались дренажные трубки, ввиду высокой вероятности осложнений.

Как показал анализ протоколов операций, остаточную полость обрабатывали: 85% раствором глицерина или 10% раствором формалина, или с применением энергии лазерного излучения (расфокусированным лучом углекислотного лазера) с последующим сеансом фотодинамической терапии.

Послеоперационные осложнения у больных РЭП встречались в 5 (17,8%) случаях. Это были: нагноение остаточной полости, желчный свищ, билома (таблица 14).

Таблица 14 - Распределение больных с РЭП (n=5) в зависимости от послеоперационных осложнений

Осложнения после оперативного вмешательства	Количество больных РЭП абс (%)
Нагноение остаточной полости	3 (10,7)
Желчный свищ	1 (3,6)
Билома (скопление желчи в остаточной полости)	1 (3,6)
Всего	5 (17,8)

5.3. Мероприятия по улучшению результатов профилактики и лечения рецидивов однокамерного эхинококкоза печени

Laivacuma S. et al. (2015) доказали, что химиотерапия продолжительностью 3 года в итоге приводит к статистически значимым патологическим изменениям в эхинококковых кистах [125].

Нами изучена эффективность применения альбендазола для профилактики рецидива заболевания. Для этого нами был проанализирован следующий 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 неоднородной структуры, смешанной эхогенности, с четкими контурами. Больной оперирован, выполнено оперативное вмешательство в виде сочетания резекции 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 после оперативного вмешательства. Проведено исследование: хитиновая оболочка эхинококкового пузыря имела серовато-белый цвет, непрозрачное содержимое, без нагноения. Внутри кисты обнаружили дочерние пузыри.

Провели микроскопический анализ удаленного препарата у данного больного на наличие у протосколексов известковых телец, характеризующих их нормальное состояние (рисунок 22).

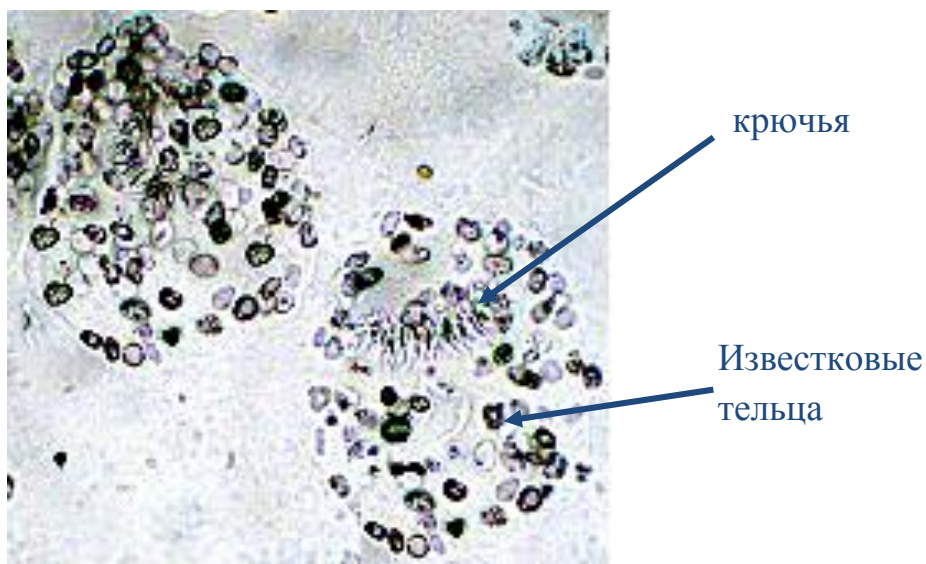


Рисунок 22 - Протосколексы эхинококка с известковыми тельцами (ув. $\times 1500$, окраска раствором Люголя)

Среди протосколексов встречались и деформированные, в них отсутствовали известковые тельца (рисунок 23).



Рисунок 23 - Протосколексы эхинококка без известковых телец (ув. $\times 1500$, окраска раствором Люголя)

Некоторые из них были полностью разрушенными и крючья находились в пузырьной жидкости (рисунок 24).

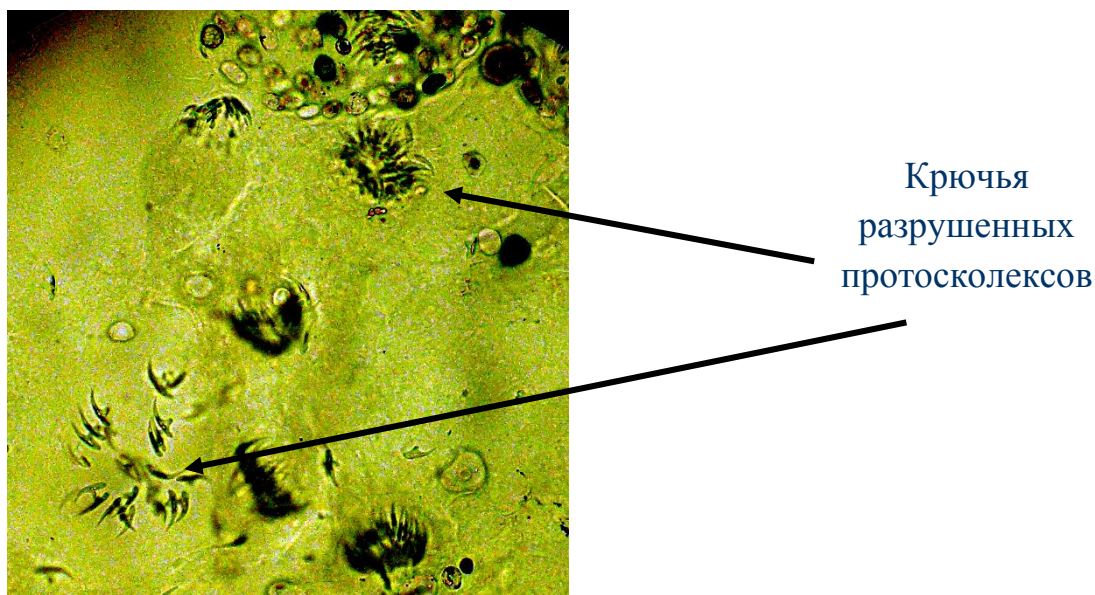


Рисунок 24 - Поврежденные протосколексы эхинококка (ув. $\times 1500$, окраска раствором Люголя)

Изучение доли жизнеспособных протосколексов в пузырной 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 ($p=0,03$; $\chi^2=4,51$).

Этот пример показал на изменения в материнской эхинококковой кисте схожие с дегенеративными процессами, вызываемыми альбендазолом. Полученные сведения согласуются с литературными данными о том, что альбендазол мало влияет на зародыши внутри дочерних пузырей [191].

За последние годы в практику лечения больных эхинококкозом печени стали внедряться малоинвазивные методы. Отношение к ним неоднозначное. По мнению В.А. Кубышкина и соавт. (2002), показания к их применению должны базироваться в первую очередь на противопоказаниях к радикальным операциям [48]. Ф.Г. Назыров и соавт. (2011 г.) весьма сдержанно относятся к чрескожным миниинвазивным вмешательствам из-за их недостаточной эффективности и возможности генерализации паразитарного процесса [89]. Учитывая, что к чрескожным пункционно-дренирующим, лапароскопическим

методам очень строги показания, они проводятся реже, чем традиционные и радикальные оперативные вмешательства.

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.

Полученный нами результат исследования жизнеспособности протосколексов оправдывает мнение авторов о том, что наличие дочерних пузырей является противопоказанием при лапароскопических, пункционно-дренирующих методах лечения. Хотя есть спорное мнение, что чрескожное дренирование можно использовать даже при наличии дочерних пузырей [124].

На основании полученных данных можно считать, что случайное повреждение во время операции дочерних пузырей является риском развития рецидива даже у больных, получающих химиопрофилактику альбендазолом. Поэтому можно добавить к числу противопоказаний к лапароскопическим методам и наличие дочерних пузырей в кистах, что согласуется с литературными данными.

РЕЗЮМЕ ПО ГЛАВЕ 5

Таким образом, проведенные исследования показали, что повторные операции по поводу рецидива эхинококкоза печени представляют значительные трудности вследствие более частого (82,1%), чем первичное (17,9%) множественного поражения, обызвествления капсулы и нагноения кист. Чаще встречались случаи сочетанного поражения печени и брюшной полости. Полученные результаты согласуются с литературными и еще раз подтверждают, что проблема рецидивов эхинококкоза печени актуальна, и в ней есть еще нерешенные вопросы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эхинококкоз человечеству известен с древности и термин «эхинококкоз» был предложен Рудольфи в 1801 году. Только в конце XIX века было определено его паразитарное происхождение. Вначале предпринятые попытки консервативного лечения, рентгенотерапии не увенчались успехом. На сегодняшний день хирургическое лечение является единственно эффективным. Сейчас эхинококкоз - одно из самых распространенных паразитарных инвазий печени, встречающихся в хирургической практике [34, 107]. По данным Роспотребнадзора Российской Федерации (2016) до настоящего времени эпидемиологическая ситуация по эхинококкозам в России остается сложной. К числу регионов РФ, где регистрируется высокий показатель заболеваемости эхинококкозом населения относится и Республика Башкортостан. Это тяжелое заболевание в 22 – 54% случаев осложняется развитием рецидивных кист [24]. Повторные хирургические вмешательства при эхинококкозе отличаются методически и технически значительной сложностью, а в ряде случаев (при множественных и многократных рецидивах) приводят к инвалидности и даже летальному исходу.

Широкий диапазон частоты рецидивов в разных клиниках обусловлен множеством факторов, в том числе эффективностью профилактики. Успех профилактических мероприятий во многом зависит от выявления причины развития рецидива, тем не менее, до настоящего времени отсутствует единство мнений по вопросам, касающимся этиологии (метастатическая, имплантационная, резидуальная, реинвазивная) рецидива. Метод дифференциации рецидивных кист еще не разработан.

Для профилактики рецидивов и лечения ранних этапов развития эхинококкоза широко применяют препарат «альбендазол» с эффективностью 40-100%. Этот препарат назначается в дозе 10-20 мг/кг, длительностью 25-30 дней и количеством курсов химиотерапии 3-20 в год. Рекомендации по назначению схемы химиотерапии не стандартизированы, что во многом определяет актуальность проблемы эхинококкозов.

Все вышеуказанное явилось основанием для планирования и выполнения исследования с целью разработки патогенетически обоснованных мероприятий по улучшению профилактики и лечения рецидивов эхинококкоза печени в ближайшие и отдаленные сроки после хирургического лечения.

Для достижения цели на первом этапе работы была поставлена задача: на основе ретроспективного анализа клинического материала (за 1998-2012 годы) изучить частоту развития рецидива эхинококкоза печени в ближайшие и отдаленные сроки после хирургического лечения. Решение этой задачи осуществляли путем выкопировки информации из медицинских карт 300 стационарных больных, поступивших в РКБ. В результате этой работы было определено, что болеют эхинококкозом печени в равной степени мужчины и женщины, чаще в трудоспособном возрасте 20-40 лет, что доказывает социальную значимость проблемы эхинококкозов в РБ. В большинстве случаев у больных эхинококкозом встречалась солитарная форма поражения и у мужчин и у женщин. Множественный эхинококкоз печени у мужчин встречался значительно чаще, чем у женщин ($p=0,02$; $\chi^2=5,53$). Эхинококковые кисты значительно чаще ($p<0,05$) локализовались в правой доле печени, чем в левой, обе доли печени были поражены в 10,7% случаев. Частота рецидива составила 19,3%.

Проведенное на втором этапе работы аналогичное исследование материала за 2013 – 2016 годы показало, что поло-возрастной состав пациентов за последние два десятилетия мало изменился ($p=0,43-0,79$; $\chi^2=0,07-0,61$). По-прежнему наблюдается преимущественное поражение правой доли печени ($p<0,05$), что согласуется с данными литературы. В 1998-2012 гг. выявлено небольшое преобладание солитарной формы эхинококкоза печени, а в исследованиях за 2013-2016 гг. значительно чаще ($p=0,02$; $\chi^2=5,62$) у пациентов обнаруживали 2 и более кист в печени. Полученные данные отличаются от литературных, где показано, что солитарный эхинококкоз печени существенно превышает другие клинические формы [36, 196]. Высокая частота множественного эхинококкоза в нашей выборке, вероятно, связана с

тем, что в РЦХГ поступают пациенты из РБ с наиболее тяжелыми формами заболевания. Показатель частоты рецидивов за этот период составил 17,1%, то есть в последние годы приобрел тенденцию к снижению (на 2,2%).

На втором этапе исследований выявлено, что среди пациентов с РЭП множественные эхинококковые кисты обнаруживались существенно чаще, чем у пациентов с ПЭП ($\chi^2=11,47$; $p=0,002$). Проведенный сравнительный анализ размеров эхинококковых кист у пациентов с ПЭП и РЭП существенной разницы не выявил ($p=0,22-0,67$; $\chi^2=0,18-1,47$). Более чем половина кист имели средние размеры, среди них у пациентов с ПЭП и РЭП количество средних кист было почти равным. 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. Таким образом, изучение размеров кист у больных с РЭП и ПЭП показало, что чаще диагностировали заболевание, когда кисты достигали размеров - более 50 мм в диаметре. В этих случаях оперативное лечение уже становится безальтернативным, поэтому больные эхинококкозом являются контингентом хирургических клиник.

Проведенный сравнительный анализ фазы жизнедеятельности кист при первичном и рецидивном эхинококкозе печени показал, что у больных ПЭП значительно больше было кист в ПБ фазе, чем у больных с РЭП ($p=0,03$; $\chi^2=4,63$). Для рецидивного эхинококкоза печени характерным являются множественные поражения и доминирование мёртвых и осложненных кист диаметром до 7,0 см. РЭП в большинстве (64,3%) случаев развивался после ПЭП с кистами ПБ фазы жизнедеятельности.

Выявить отличия между рецидивными кистами важно для установления причины повторного заболевания эхинококкозом. Поэтому на третьем этапе исследований нами проведен сравнительный анализ морфологического строения разных кист у пациентов с ПЭП и РЭП. Выявлено, что все кисты были фертильны (100%), то есть имели зародышевые элементы: выводковые капсулы, эвагинированные и инвагинированные протосколексы, дочерние

пузыри (в 71,7% кист). Соотношение этих элементов в разных кистах значительно отличалось как при ПЭП, так и при РЭП и выделить существенную разницу между первичными и рецидивными кистами, а также между разными рецидивными кистами не представилось возможным, что согласуется с данными литературы. Поскольку инвазионными началами эхинококкового пузыря являются протосколексы, то определение их жизнеспособности также важно для адекватной профилактики рецидивов. Вычисление процента жизнеспособных протосколексов в разных кистах существенной разницы между ними не выявило ($p > 0,05$). Таким образом, изучение макро- и микроскопического строения эхинококковых пузырей и их содержимого, не выявило отличия между рецидивными кистами. Значит, морфологические исследования мало информативны для дифференциации рецидивных кист.

Дифференциация рецидивных кист по происхождению (метастатической, резидуальной, имплантационной) имеет значение при выборе метода хирургического лечения и является необходимым для проведения «адресной» профилактики РЭП. Например, по мнению хирургов, опеределение метастатической причины возникновения кист является прямым показанием для выполнения радикальных операций, к которым относятся перицистэктомии и атипичные резекции. Обнаружение реинвазивной природы рецидива - характеризует неблагоприятную эпидемиологическую обстановку.

Нами проведен анализ литературы по генетическим отличиям внутри вида *E. granulosus*. Этот вид делят на генотипы *G1- G10*. Наиболее распространен *G1* [147, 186, 187]. Выявлено, что в основе внутривидовой variability лежат генетические перестройки, которые возникают в результате мутаций и комбинативной изменчивости. Поскольку метастатические и имплантационные кисты отраждаются из первичной кисты, поэтому вероятность того, что они имеют генетическое сходство, высока. Резидуальные и реинвазивные кисты могут иметь сходство с генотипом

первичной кисты или нет. Исследований в этом направлении мы в доступной нам отечественной и зарубежной литературе не обнаружили.

Учитывая генетическую вариабельность эхинококка нами разработан способ дифференциации разных по происхождению рецидивных кист. Он основан на сравнении длины маркерного фрагмента гена *cox1* первичной (материнской) кисты с рецидивной. Для настоящего исследования был использован способ дифференциации генотипов эхинококка, основанный на сравнении ПЦР-продуктов путем использования разных праймеров. Выявлено, что среди исследуемых фрагментов гена *cox1* было не менее двух полиморфных генетических вариантов. Поэтому, этот способ можно использовать для дифференциации рецидивных кист.

Таким образом, проведенные исследования на третьем этапе работы показали, что рецидивные кисты могут иметь различную локализацию, размеры, причину возникновения, находиться в любой фазе жизнедеятельности, и для раннего предупреждения повтора этого тяжелого заболевания необходим универсальный метод профилактики, к которому в настоящее время можно отнести химиотерапию. Эти результаты согласуются с данными литературы.

На следующем этапе работы исследовали эффективность профилактики рецидивов эхинококкоза альбендазолом. Пациентов разделили на группы: основную и сравнения. В основную группу вошли больные эхинококкозом печени, принимавшие альбендазол для профилактики рецидива по дифференцированной схеме, с учетом генотипа. В группу сравнения включили пациентов с эхинококкозом печени, отказавшихся от химиопрофилактики, или принявших альбендазол по стандартной схеме. У пациентов основной группы провели исследование полиморфизма *1F(C-163A) 1 интрона гена *CYP1A2* методом ПЦР-ПДРФ анализа. Пациентам основной и группы сравнения каждые полгода проводили контрольное обследование, которое включало УЗИ и клинические данные. Через 0,5 – 2,5 года проведенный сравнительный анализ показал, что в группе сравнения частота рецидива была больше, чем

основной группе в 3,2 раза ($\chi^2=5,20$; $p=0,02$). Значит, тестирование генов метаболизма альбендазола у больных было необходимо для профилактики РЭП.

Полученные данные согласуются с литературными. Как показывают опубликованные обзоры, химиотерапия альбендазолом полностью эффективна в 10-58% случаев, приводит к улучшению - у 10-51%, неэффективна у 13-37% пациентов. Где также показано, что альбендазол вызывает дегенеративные изменения в кисте в 40-74% случаев. В то же время доказано, что альбендазол-сульфоксид в дозе 200 мкг/мл, обладает 100% сколицидной активностью в пробирке [195]. Так было продемонстрировано, что на эффективность препарата в организме человека влияют внутренние факторы.

Есть публикации о высокой эффективности химиотерапии альбендазолом [111]. Например, Бабакулов К.К. и др. (2014) провели лечение альбендазолом в дозе 800 мг/сут в 3 курса по 28 дней у больных высокой группы риска рецидива эхинококкозом печени (пациенты, в анамнезе которых был прорыв кисты с обсеменением, или имели оставленные мелкие множественные кисты, и др.). Препарат давали с растительным маслом (жирная пища в 5 раз увеличивает всасывание альбендазола). Отклонений в функциональном состоянии печени (по результатам биохимических анализов крови) не обнаружили и достигли значительного снижения частоты рецидива до 1,7% (у 2 из 114 пациентов) [16].

В настоящее время применяют альбендазол для лечения эхинококковых кист размерами менее 5 см и для противорецидивной профилактики после оперативного лечения. Это положение закреплено и в резолюции конгресса Ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ (2014 г.) и одобрена ВОЗ. Проведенный анализ литературы показал, что альбендазол, попадая в организм человека, превращается в альбендазол-сульфоксид, обладающий противогельминтным действием, далее метаболизируется в альбендазол-сульфон - не имеющий биологической активности. В основном катализирует

процесс превращения в альбендазол-сульфон изоформа цитохрома P450 CYP1A2, функционирующая в клетках печени. Изучение варибельности гена *CYP1A2* в популяциях людей доказало его влияние на активность метаболизма ряда лекарств [49]. Одним из наиболее изученных и функционально значимых является полиморфизм 1 интрона *1F(C-163A) [97, 141]. Установлено, что этот полиморфизм приводит к существенному изменению каталитической активности цитохрома CYP1A2 и увеличивает его индуцибельность [8, 179]. Мы предположили, что у больных эхинококкозом печени, имеющих «быстрый» генотип, альбендазол быстро метаболизируется и поэтому оказывает непродолжительное терапевтическое действие. Лицам с таким генотипом мы рекомендовали химиотерапию в максимально допустимой суточной дозе - 20 мг/кг веса в сутки. После каждого курса лечения проводили контрольное обследование, которое включало УЗИ, клинические данные, биохимические показатели функционального состояния печени (АЛТ, АСТ). Пациентам с генотипом *CC* и *AC* имеющим фенотип EM – «нормального» метаболизма назначали профилактику рецидива в стандартной минимальной дозе 10 мг/кг веса в сутки.

Корреляция аллелей генов цитохромов *CYP1A1* и *CYP1A2* с особенностями метаболизма лекарств стала очевидной в связи с появлением в последнее десятилетие в литературе новых доказательств. Skuhala T. et al. (2014) отмечали огромный диапазон различий между минимумом и максимумом (25 - 80 раз) концентрации альбендазол-сульфоксида в крови пациентов [112]. По их данным у пациентов, которые не получали терапию альбендазолом, частота рецидивов составила 16,7%, в то время как не наблюдались рецидивы у больных, получавших химиопрофилактику.

Использование информации об участии цитохрома CYP1A2 в метаболизме альбендазола и о наличии у гена *CYP1A2* аллельных вариантов, повышающих ее активность, а также результаты проведенных исследований позволили нам разработать алгоритм дифференцированного подхода к химиотерапии и профилактики рецидива. Эффективность этого алгоритма

была подтверждена примерами из практики, в которых было использовано молекулярно-генетическое тестирование.

На пятом этапе исследований проведен анализ сроков обнаружения рецидивных эхинококковых кист после хирургического лечения у пациентов РЦХГ за 2013 – 2016 годы и частоты рецидива в зависимости от тактико-технических аспектов операции, поскольку выбор метода хирургического лечения РЭП, его объем зависят от размеров и локализации эхинококковых кист, наличия осложнений, состояния пациента. Большинство РЭП обнаруживали в сроки до 2,5 лет после ПЭП. Эти данные согласуются с результатами исследований других авторов и объясняются разной этиологией рецидивных кист [24]. Ранние РЭП связывают с резидуальным происхождением, а поздние - с имплантационным, метастатическим или реинвазионным. Такое распределение объясняют быстрым ростом резидуальных и медленным – остальных кист. В хирургии эхинококкоза понятие «поздние» рецидивы заболевания введено не так давно. Поздние рецидивы эхинококкоза отличаются от ранних рецидивов клинически более тяжелой формой заболевания преимущественно с мертвым паразитом (89,7%) в различных стадиях посмертных изменений средних и больших (43%) размеров [93]. Большую часть поздних рецидивов (82,9%) обычно диагностируют в сроки 10-30 лет после первой операции.

Проведенный нами анализ показал, что рецидивы после первой операции чаще (71,4%) были диагностированы в ранние сроки. Эти результаты позволили предположить, что роль имплантационного и метастатического происхождения рецидива не так велика, как резидуального, что согласуется с данными Назырова Ф.Г. и др. (2011).

Сравнительный анализ распределения больных РЭП в зависимости от сроков обнаружения рецидива и от локализации первичной кисты показал, что и в ближайшие и отдаленные сроки после хирургического лечения рецидивы чаще развивались в печени, если у больных первичная киста также локализовалась в печени ($p=0,01$; $\chi^2=5,78$).

Проведен сравнительный анализ методов хирургического лечения ПЭП и РЭП и частоты встречаемости повтора заболевания от вида операции. Установлено, что при ПЭП чаще всего применяли закрытую эхинококкэктомия. Среди ПЭП органосохраняющие традиционные вмешательства составили 50,6%, а при РЭП незначительно меньше – 42,8% ($p=0,58$; $\chi^2=0,31$). Доля резекций при ПЭП составила 23,5%. При РЭП закрытую эхинококкэктомия проводили редко (7,1%) и половину из операций (53,6%) составляли резекции и сочетание резекции с традиционной эхинококкэктомией. Возможно потому, что при РЭП чаще встречалась множественная форма заболевания. Эти данные согласуются с мнением многих хирургов о том, что необходимо отдавать предпочтение радикальной хирургии при лечении рецидива эхинококкоза печени, поскольку рецидивные кисты были часто «мертвыми» или с обызвествленной капсулой. Известно также, что традиционная эхинококкэктомия чаще сопровождается послеоперационными осложнениями (в том числе рецидивами заболевания), а радикальная более эффективна в отношении профилактики рецидивов, но характеризуется большим числом интраоперационных осложнений [114, 146, 199].

Как показал анализ, кисты в фазе жизнедеятельности ПА чаще оперировались путем традиционной ЭЭ, ПБ фазы – резекцией и III – сочетанием резекции с традиционной ЭЭ, поскольку эти кисты чаще встречались при множественном РЭП. Эти результаты согласуются с литературными данными о том, что при обызвествлении капсулы кисты операцией выбора является радикальное вмешательство [104]. Обращает внимание, что пациенты поступали часто (17,9%) с рецидивными кистами с обызвествленной капсулой, и в этих случаях радикальное хирургическое лечение уже становится безальтернативным. Есть мнение, что после нагноившейся первичной кисты рецидивы редки, имеют резидуальную или метастатическую природу возникновения, а не имплантационную, поскольку

гнойное содержимое разрушает зародышевые элементы эхинококкового пузыря [6, 7].

За последние годы в практику лечения больных эхинококкозом печени стали внедряться миниинвазивные методы. Внедрение эндохирургических технологий устранило один из наиболее существенных недостатков традиционных операций – несоответствие между продолжительным травматичным созданием доступа и минимальным по времени вмешательством на самом органе. Учитывая, что к чрескожным пункционно-дренирующим, лапароскопическим методам очень строги показания, они проводятся реже, чем традиционные и радикальные оперативные вмешательства. По мнению В.А. Кубышкина и соавт. (2002), показания к их применению должны базироваться в первую очередь на противопоказаниях к радикальным операциям. Ф.Г. Назыров и соавт. (2011) весьма сдержанно относятся к чрескожным миниинвазивным вмешательствам из-за опасности обсеменения после прокола и возможной генерализации паразитарного процесса.

Нами изучена эффективность применения альбендазола у пациента, получившего химиотерапию в стандартной схеме. Несмотря на проведенное лечение альбендазолом у него развилась рецидивная киста с дочерними пузырями. Провели микроскопический анализ содержимого материнских и дочерних кист на наличие известковых телец, характеризующих жизнеспособность протосколексов. Выявили, что значительно больше было жизнеспособных протосколексов в дочерних пузырях, чем в материнских ($p=0,03$; $\chi^2=4,51$). Эти сведения согласуются с литературными данными о том, что альбендазол меньше влияет на зародыши внутри дочерних пузырей.

Полученный результат оправдывает мнение ряда авторов о том, что наличие дочерних пузырей является противопоказанием для пункционно-дренирующих методов лечения. Хотя есть мнение, что чрескожное дренирование можно использовать даже при наличии дочерних пузырей. На основании полученных данных можно считать, что случайное повреждение во

время операции дочерних пузырей является риском развития рецидива даже у больных, получающих химиопрофилактику альбендазолом. Поэтому можно добавить к числу противопоказаний к лапароскопическим методам и наличие дочерних пузырей в кистах и выраженных висцеро-париетальных спаек, что согласуется с литературными данными.

Проведенная работа имеет новизну:

✓ впервые применен молекулярно-генетический анализ для дифференциации рецидивных эхинококковых кист, что позволило улучшить профилактику РЭП и расширило представления о происхождении рецидива;

✓ впервые применен способ прогнозирования эффективности химиотерапии эхинококкоза печени альбендазолом на основании изучения индивидуальной активности метаболизма, что позволило персонализировать назначение дозы препарата.

Практическая значимость работы связана с накоплением материала об этиопатогенезе рецидивов эхинококкоза печени, который улучшает профилактику и лечение рецидива эхинококкоза печени. Разработанный алгоритм дифференцированного подхода к профилактике рецидива позволяет повысить качество оказания помощи этой группе больных. Полученные результаты могут быть учтены при коррекции стандарта медицинской помощи больным инвазией печени, вызванной *E. granulosus*.

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 UM, в 33,4% и 29,8% случаев – генотипов *AC* и *CC* с фенотипом «нормального» метаболизма EM, что позволило предложить дифференцированный алгоритм химиопрофилактики рецидивов заболевания.
 5. Сравнительная оценка результатов хирургического лечения эхинококкоза печени в 2013 - 2016 годах 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 ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АБЗ	Альбендазол
АБЗ-СД	Альбендазол-сульфоксид
АБЗ-СН	Альбендазол-сульфон

АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АСТ	Аспартатаминотрансфераза
ИДПО	Институт дополнительного последипломного образования
КТ	Компьютерная томография
МРТ	Магнитно-резонансная томография
ПЭП	Первичный эхинококкоз печени
РБ	Республика Башкортостан
РКБ	Республиканская клиническая больница
РЭП	Рецидивный эхинококкоз печени
УЗИ	Ультразвуковое исследование
ФГБОУ ВО БГМУ	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет»
ЭЭ	Эхинококкэктомия

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаршалина, М.В. Хирургическое лечение тотального эхинококкоза брюшной полости / М.В. Абаршалина, А.С. Фатьянова, Г.Х. Мусаев // Хирургия. - 2012. - №9. - С. 87-89.

2. Абдисаматов, Б.С. Хирургическое лечение эхинококкоза печени / Б.С. Абдисаматов, М.С. Айтназаров, Э. Мадаминов // Наука, новые технологии и инновации. - 2015. - №3. - С. 70-73.
3. Абдуллаев, А.М. Лапароскопическая эхинококкэктомия у пациентов с эхинококкозом печени / А.М. Абдуллаев, Р.А. Койчуев, И.Г. Ахмедов // Казанский медицинский журнал. - 2015. - №2. - С. 144-149.
4. Авасов, Б.А. Резекции печени в хирургическом лечении эхинококкоза печени / Б.А. Авасов // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. - 2013. - Т. 13, №6. - С. 122-123.
5. Айтназаров, М.С. Оперативное лечение рецидива эхинококкоза печени поддиафрагмальной локализации / М.С. Айтназаров // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. - 2015. - Т. 15, №7. - С. 11-12.
6. Алиев, М.Ж. Оперативное лечение эхинококкоза печени и его результаты / М.Ж. Алиев // Вестник КГМА им И.К. Ахунбаева. – 2014. - №3. - С. 88-90.
7. Алиев, М.Ж. Способ клиничко-лабораторно-морфологического обоснования антипаразитарной обработки при эхинококкозе печени / М.Ж. Алиев // Вестник КГМА им И.К. Ахунбаева. - 2015. - №2(1). - С. 123-125.
8. Анализ ассоциации полиморфных вариантов С-163А гена СYP1A2 у больных раком легкого в РС (Я) / В.М. Николаев, Ф.Г. Иванова, Е.Н. Александрова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2013. - Прил. 2. – С. 52.
9. Аничкин, В.В. Антипаразитарная обработка фиброзных (остаточных) полостей печени после эхинококкэктомии / В.В. Аничкин, В.В. Мартынюк // Хирургия. Восточная Европа. - 2013. - №4(08). - С. 85-94.
10. Аничкин, В.В. Лечение осложненных форм эхинококкоза печени в экстренной абдоминальной хирургии / В.В. Аничкин, В.В. Мартынюк // Экстренная медицина. - 2014. - №1(9). - С. 62-70.
11. Аничкин, В.В. Метод атипичной резекции с антипаразитарной обработкой печеночной ткани смесью глицерина и 1-2% раствора альбендазола в димексиде у пациентов с эхинококкозом печени / В.В. Аничкин, Э.А.

- Повелица, В.В. Мартынюк // Новости хирургии. - 2014. - Т. 22, №3. - С. 360-365.
12. Ахмедов, И.Г. Анализ отдаленных результатов хирургического лечения эхинококкоза: методологический аспект / И.Г. Ахмедов // Анналы хирургической гепатологии. – 2016. - Т. 21, №4. - С. 113-118.
13. Ахмедов, И.Г. Классификация эхинококковых кист, выявленных после хирургического лечения / И.Г. Ахмедов, А.О. Османов // Хирургия. – 2002. - №9. – С. 27-30.
14. Ахмедов, И.Г. Рецидив эхинококковой болезни: патогенетические аспекты, профилактика, ранняя диагностика и лечение / И.Г. Ахмедов // Хирургия. - 2006. – №4. – С. 52-57.
15. Ахмедов, И.Г. Формирование микроцефалооднокамер в эхинококковой кисте и его индукция *in vitro* / И.Г. Ахмедов // Вестник Дагестанской государственной медицинской академии. - 2015. - №1(14). - С. 29-33.
16. Бабакулов, К.К. Химиопрофилактика рецидива эхинококкоза / К.К. Бабакулов, М.Ж. Алиев, А.К. Каниетов // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева – 2014. - №4. – С. 162-165.
17. Бекиш, Вл.Я. Состояние генома хозяина при гельминтозах / Вл.Я. Бекиш, О.-Я.Л. Бекиш. – Витебск: ВГМУ, 2004. - 218 с.
18. Буйдаков, В.М. Способ идентификации генотипа *GI* у изолятов *Echinococcus granulosus* / В.М. Буйдаков, А.Н. Аслаев, А.А. Гумеров // Медицинская паразитология. – 2010. - №1. – С. 5-8.
19. Велиева, Т.А. Проблемы диагностики и лечения эхинококкоза / Т.А. Велиева // ScienceRise. - 2015. - Т. 5, №4(10). - С. 8-11.
20. Ветшев, П.С. Эндохирургическое лечение осложненного эхинококкоза печени у детей / П.С. Ветшев, Г.Х. Мусаев, А.С. Фатьянова // Анналы хирургической гепатологии. – 2015. - Т. 20, №3. - С. 47-53.
21. Ветшев, П.С. Эхинококкоз: основы диагностики и роль миниинвазивных технологий (обзор литературы) / П.С. Ветшев, Г.Х. Мусаев, А.С. Фатьянова // Анналы хирургической гепатологии. – 2015. - Т. 20, №3. - С. 47-50.

22. Ветшев, П.С. Эхинококкоз: современное состояние проблемы / П.С. Ветшев, Г.Х. Мусаев, С.В. Бруслик // Украинский журнал хирургии. - 2013. - №3(22). - С. 196-201.
23. Видеолапароскопическое лечение эхинококкоза печени у детей / Р.Х. Шангареева, А.А. Гумеров, И.А. Мамлеев [и др.] // Детская хирургия. – 2008. - №6. – С. 32-36.
24. Вишневский, В.А. Радикальные операции при первичном и резидуальном эхинококкозе печени / В.А. Вишневский, М.Г. Ефанов, Р.З. Икрамов // Анналы хирургической гепатологии. - 2011. - №4. - С. 25-33.
25. Возможности хирургического лечения рецидивного эхинококкоза / Г.Х. Мусаев, А.С. Фатьянова, А.С. Бекшоков [и др.] // Хирургия. - 2015. - №6. - С. 77-80.
26. Гатауллин, Н.Г. Эхинококкоз органов брюшной полости / Н.Г. Гатауллин, М.Х. Камалов, В.В. Плечев // Казанский медицинский журнал. – 1982. – Т. 63, №6. – С. 33 – 35.
27. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
28. Гилевич, М.Ю. Зависимость способа эхинококкэктомии от стадии развития паразита / М.Ю. Гилевич, А.В. Бодулин // Хирургия. - 1986. - № 4. - С. 94-97.
29. Гульмурадов, Т.Г. Эндовидеохирургическое лечение эхинококкоза печени / Т.Г. Гульмурадов, Д.С. Сангов, Ф.Н. Назаров // Вестник последипломного образования в сфере здравоохранения. - 2013. - №3. - С. 18-22.
30. Гумеров, А.А. Комплексное лечение эхинококкоза у детей / А.А. Гумеров, Т.Н. Ткаченко, Р.Х. Шангареева // Хирургия. – 2010. - №1. – С. 25-29.
31. Джаборов, А.И. Распространенность эхинококкоза в Республике Таджикистан / А.И. Джаборов // Здравоохранение Таджикистана. - 2013. - №3(318). - С. 29-33.

32. Диагностика и тактика хирургического лечения рецидивного эхинококкоза печени / К.М. Курбонов, Д.Е. Давлатов, Ф.И. Махмадов, З.А. Азизов // Здоровоохранение Таджикистана. - 2014. - №2(321). - С. 36-43.
33. Диагностика и хирургическое лечение сочетанного эхинококкоза легких / А.З. Вафин, А.В. Дядьков, А.Н. Айдемиров [и др.] // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2013. - №5. - С. 21-25.
34. Диагностика и хирургическое лечение эхинококкоза печени в Латвии / А.И. Тулин, Р. Рибениекс, Е.Н. Погодина [и др.] // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2012. - Т. 171, №1. - С. 38-44.
35. Диагностика эхинококкоза у детей на современном этапе / С.В. Арестова, И.В. Афуков, Р.С. Котлубаев [и др.] // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. - 2014. - Т. 4, №2. - С. 30-36.
36. Домашенко, О.Н. Эхинококкоз печени: диагностика, лечебная тактика / О.Н. Домашенко, А.Ф. Шаталов, Д.С. Паниева // Известия высших учебных заведений Поволжского региона. Медицинские науки. – 2016. - Вып. 3(39). – С. 35 - 37.
37. Досмагамбетов, С.П. Методы эндовидеохирургии в лечении эхинококкоза печени, осложненного перитонитом у детей / С.П. Досмагамбетов, Г.Б. Кенжалиев, Е.Н. Кенжегулов // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2014. - №1. URL: <http://www.elmag.uran.ru> (дата обращения 2014).
38. Ермакова, Л.А. Диагностическая значимость иммуноферментного анализа при ларвальных гельминтозах (трихинеллез, эхинококкоз, токсокароз) / Л.А. Ермакова, Т.И. Твердохлебова, Н.Ю. Пшеничная // Профилактическая и клиническая медицина. - 2012. - №3(44). - С. 59-63.
39. Журавец, А.К. Цистный эхинококкоз – гидатидная болезнь животных и человека / А.К. Журавец. – Новочеркасск, 2004. - 507 с.
40. Иванова, И.Б. Эхинококкоз на территории Хабаровского края. Вопросы лабораторной диагностики / И.Б. Иванова // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. - 2012. - №20. - С. 92-97.

- 41.Изоформа CYP1A2 как составная часть суперсемейства цитохромов P-450 / Я.Г. Новицкая, В.П. Жердев, А.О. Виглинская, А.А. Литвин // Фармакокинетика и фармакодинамика. - 2014. - №1. С. 4-7.
- 42.Касыев, Н.Б. Диагностика рецидивного эхинококкоза / Н.Б. Касыев // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. - 2013. - №3. - С. 143-145.
- 43.Касыев, Н.Б. Заболеваемость гидатидозным эхинококкозом населения Киргизской республики / Н.Б. Касыев, Р.М. Баширов, А.Н. Нурбекова // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. - 2014. - №4. - С. 165-167.
- 44.Касыев, Н.Б. Современные подходы к лечению эхинококкоза печени / Н.Б. Касыев, М.С. Айтназаров, А.Н. Нурбекова // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. - 2016. - №3. - С. 68-71.
- 45.Клинико-экономические особенности различных стратегий гемостаза у пациентов в ходе обширной операции по резекции печени / Г.Х. Мусаев, А.С. Фатьянова, А.С. Бекшоков [и др.] // Хирургия. - 2015. - №6. - С. 77-80.
- 46.Коваленко, Ф.П. Экспериментальная модель эхинококкозов: оптимизация и применение в разрезе новых методов диагностики, профилактики и лечения эхинококкозов человека и животных: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 03.00.19 / Коваленко Феликс Павлович. – М., 1998. – 59 с.
- 47.Криохирургия очаговых поражений печени / Б.И. Альперович, Н.В. Мерзликин, В.Н. Сало [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - №1. – С. 143-149.
- 48.Кубышкин, В.А. Эволюция методов хирургического лечения эхинококкоза печени / В.А. Кубышкин, В.А. Вишневский, М.А. Кахаров // Анналы хирургической гепатологии. – 2002. - №1. - С. 18-22.
- 49.Кукес, В.Г. Клиническая фармакология: учебник / В.Г. Кукес; под ред. В.Г. Кукес и Д.А. Сычева. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2015. – 1024 с.
- 50.Лазарева, Е.Н. Оценка возможностей лучевых методов при эхинококкозе печени / Е.Н. Лазарева // Бюллетень медицинских интернет-конференций. - 2013. - Т. 3, №11. - С. 1314.

51. Лапароскопические эхинококкэктомии при поражении печени у детей / И.А. Мамлеев, А.А. Гумеров, В.У. Сатаев [и др.] // Детская хирургия. – 1999. – №2. – С. 27-30.
52. Лечение эхинококкоза печени взрослых больных, осложненного пециломикозом и ХОБЛ / А.В. Стреляева, С.А. Сапожников, Н.В. Чебышев [и др.] // Хирургическая практика. - 2014. - №1. - С. 37-42.
53. Мадаминов, Э.М. Абдоминализация полости фиброзной капсулы в лечении эхинококкоза печени / Э.М. Мадаминов // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. - 2014. - №4. - С. 173-175.
54. Мадаминов, Э.М. Результат малоинвазивного варианта эхинококкэктомии печени / Э.М. Мадаминов // Наука, новые технологии и инновации. - 2015. - №1. - С. 111-112.
55. Махмадов, Ф.И. Некоторые аспекты применения диагностической и лечебной видеолапароскопии у больных эхинококкозом печени / Ф.И. Махмадов, К.М. Курбонов, К.Р. Холов // Вестник современной клинической медицины. – 2010. – Т. 3, Прил. 1. – С. 116.
56. Меджидов, Р.Т. Профилактика рецидива абдоминального эхинококкоза / Р.Т. Меджидов, Р.С. Султанова, Ш.Р. Меджидов // Анналы хирургической гепатологии. - 2014. - №3. - С. 63-67.
57. Метод резекции печени с антипаразитарной обработкой печеночной ткани смесью глицерина и 1-2% раствора альбендазола в димексиде у пациентов с эхинококкозом печени / Н.А. Масленникова, Е.Ю. Сергеева, Е.П. Тихонова [и др.] // Казанский медицинский журнал. - 2014. - №4. - С. 531-533.
58. Мефодьев, В.В. Современная эпидемиологическая ситуация по эхинококкозу в Тюменской области / В.В. Мефодьев, Д.Р. Сабирова, О.П. Маркова // Итоги и перспективы изучения проблем инфекционных и паразитарных болезней: сборник научных трудов. - Тюмень, 2015. - С. 237-242.

59. Минаев, С.В. Повышение эффективности лечения эхинококкоза печени в детской хирургической практике / С.В. Минаев, И.Н. Герасименко, Н.И. Быков // Педиатр. - 2013. - Т. 4, №1. - С. 62-64.
60. Минимально инвазивная интраоперационная диагностика и лечение внутренних желчных свищей у пациентов с эхинококкозом печени / Ш.Ш. Амонов, М.И. Прудков, М.А. Кацадзе, О.Г. Орлов // Новости хирургии. - 2014. - №5. - С. 615-620.
61. Михин, И.В. Гигантская эхинококковая киста левой доли печени у пациентки, ранее перенесшей эхинококкэктомия левого легкого / И.В. Михин, О.А. Косивцов, С.В. Пономарев // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2014. - №3(43). - С. 52-56.
62. Мукантаев, Т.Е. Лапароскопическая эхинококкэктомия у пациентов с эхинококкозом печени / Т.Е. Мукантаев // Казанский медицинский журнал. - 2015. - №2. - С. 138-143.
63. Мукантаев, Т.Е. Сравнительная оценка ближайших и отдаленных результатов лапароскопической эхинококкэктомии из печени / Т.Е. Мукантаев // Вестник хирургической гастроэнтерологии. - 2014. - №1. - С. 31-35.
64. Мусаев, А.И. Частота осложнений и рецидивов эхинококкоза печени в зависимости от способа обеззараживания / А.И. Мусаев, Э. Максут уулу, А.Ж. Акешов // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. - 2012. - №1. - С. 120-122.
65. Нартайлаков, М.А. Некоторые аспекты хирургического лечения эхинококкоза / М.А. Нартайлаков, А.Х. Мустафин, И.А. Сафин [и др.] // Здоровоохранение Башкортостана. - 2002. - №1. - С. 27-31.
66. О заболеваемости эхинококкозом и альвеококкозом в Российской Федерации. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 2016. – 20 июня, №01/7782-16-27.

67. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2011 году: государственный доклад. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. – 316 с.
68. Обследование и лечение пациентов с инфицированными полостными образованиями печени / М.А. Нартайлаков, М.Р. Гараев, А.И. Грицаенко, В.Д. Дорофеев // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. - № 9(6). – С. 96-102.
69. Одишелашвили, Г.Д. Обоснование применения нового способа облитерации остаточных полостей после операции по поводу эхинококкоза печени / Г.Д. Одишелашвили, Д.В. Пахнов, Л.Г. Одишелашвили // Астраханский медицинский журнал. - 2015. - Т. 10, №3. - С. 98-105.
70. Однокамерный (гидатидный) эхинококкоз / Н.В. Поляков, В.В. Ромих, Р.М. Сафаров, В.Е. Поляков // Исследования и практика в медицине. - 2015. - Т. 2, №1. - С. 27-35.
71. Оперативное лечение эхинококкоза / А.Х. Мустафин, И.А. Сафин, Н.В. Пешков, Д.Р. Мушарапов // Здоровоохранение Башкортостана. Специальный выпуск. – 2000. – № 4. – С. 35.
72. Оценка активности ферментов антиоксидантной активности у больных эхинококкозом с целью персонализации терапии / Е.Ю. Сергеева, Е.П. Тихонова, Н.А. Масленникова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - №6. - С. 1206.
73. Пантелеев, В.С. Фотодинамическое воздействие и лазероантибиотикотерапия у больных с инфицированными эхинококковыми, непаразитарными кистами и альвеококковыми полостями распада печени / В.С. Пантелеев, Д.Р. Мушарапов, М.А. Нартайлаков // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. 4, №4. – С. 815-817.
74. Паразитарные поражения печени: альвеококкозы, эхинококкозы / В.С. Пантелеев, М.А. Нартайлаков, Р.Р. Абдеев [и др.] // Клиническая и

- экспериментальная хирургия. Электронный научно-практический журнал ассоциации хирургов Республики Башкортостан. www.JECS.ru (Дата обращения: 11.01.16)
75. Резекция печени при эхинококкозе / С.М. Ахмедов, Н.К. Иброхимов, Б.Дж. Сафаров [и др.] // *Анналы хирургической гепатологии*. - 2014. - №2. - С. 49-54.
76. Рожин, К.А. Динамика эпизоотического процесса по эхинококкозу в Российской Федерации и Оренбургской области / К.А. Рожин, П.И. Христиановский // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. - 2014. - №1. - С. 5.
77. Роль перигидроля в ликвидации остаточных полостей при эхинококкозе печени / Ш.Ш. Амонов, М.И. Прудков, З.Ш. Мухамедова, Т.Г. Гульмурадов // *Доклады Академии наук Республики Таджикистан*. - 2015. - Т. 58, №1. - С. 83-88.
78. Руководство по хирургии очаговых паразитарных заболеваний печени / Н.В. Мерзликин, Альперович Б.И., Бражникова Н.А [и др.]; под ред. Н.В. Мерзликина. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2013. - 468 с.
79. Салимов, Ш.Т. Возможности хирургического лечения рецидивного эхинококкоза / Ш.Т. Салимов, Б.З. Абдусаматов, А.Ш. Вахидов // *Детская хирургия*. - 2015. - №3. - С. 9-12.
80. Сангов, Д.С. Видеоэндоскопическая хирургия эхинококкоза печени / Д.С. Сангов, Ф.Н. Назаров, Т.Г. Гульмурадов // *Здравоохранение Таджикистана*. - 2013. - №3(318). - С. 53-57.
81. Сберегающая хирургия при эхинококкозе печени / А.Н. Лотов, Н.Р. Черная, С.А. Бугаев [и др.] // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2011. - Т. 16, №4. - С. 11-17.
82. Случаи эхинококкоза (альвеококкоза) в Красноярском крае / Н.А. Масленникова, Е.П. Тихонова, Т.Ю. Кузьмина [и др.] // *Лечащий врач*. - 2013. - №7. - С. 99.

83. Способы ликвидации остаточной полости печени после закрытой эхинококкэктомии / В.С. Пантелеев, А.Х. Мустафин, Р.Р. Абдеев [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10, № 5(59). – С. 81 - 88.
84. Султанова, Р.С. Профилактика абдоминального эхинококкоза / Р.С. Султанова, Р.Т. Меджидов, Ш.Р. Меджидов // Современная наука: актуальные проблемы и пути их решения. - 2014. - №8. - С. 18-23.
85. Тактика лечения детей сочетанным эхинококкозом / Р.Х. Шангареева, А.А. Мирасов, В.В. Глазырина, Э.К. Тимербаева // Хирургия. - 2017. - №1. - С. 48-53.
86. Тарасенко, В.С. Тактика хирургического лечения эхинококкоза легких и печени / В.С. Тарасенко, С.А. Корнилов, Н.Г. Асауф // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. - 2014. - №1. - С. 7.
87. Толстокоров, А.С. Лечение эхинококкоза диафрагмальной поверхности печени / А.С. Толстокоров, Ю.С. Гергенретер // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - №5. - С. 335.
88. Турсунов, Т.Т. Ларвицидное действие глауконита / Т.Т. Турсунов, Е.А. Дардыкина // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. - 2015. - Т. 15, №4. - С. 167-169.
89. Химиотерапия и проблемы рецидивного эхинококкоза печени / Ф.Г. Назыров, А.В. Девятов, М.М. Акбаров [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. - 2011. - Т. 16, №4. - С.19-24.
90. Хирургическое лечение больных с эхинококкозом печени / А.П. Толстиков, А.В. Абдульянов, М.А. Бородин, А.М. Имамова // Практическая медицина. - 2013. - №2(67) - С. 94-97.
91. Хирургическое лечение паразитарных заболеваний печени / В.Н. Барыков, Б.Х. Сарсенбаев, Н.Ф. Зинич [и др.] // Уральский медицинский журнал. - 2013. - №8(113). - С. 99-102.
92. Холин, А.В. Состояние проблемы и комплексная лучевая диагностика эхинококковых кист различных локализаций. Ч. I: Состояние проблемы /

- А.В. Холин, Г.Т. Аманбаева, Ж.Э. Абдыкадырова // Профилактическая и клиническая медицина. - 2015. - №1(54). - С. 78-85.
93. Хушвактов, У.Ш. Особенности диагностики и хирургического лечения поздних рецидивов эхинококкоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Хушвактов Уткир Шоназарович. – Ставрополь, 2012. – 24 с.
94. Черноусов, А.Ф. Эхинококкоз: стратегия и тактика / А.Ф. Черноусов, Г.Х. Мусаев, А.С. Фатьянова // Вестник хирургической гастроэнтерологии. - 2013. - №4. - С. 5-10.
95. Чжао, А.В. Хирургическое лечение эхинококкоза печени / А.В. Чжао, Р.З. Икрамов // Хирургия. Приложение к журналу Consilium Medicum. - 2016. - №2. – С. 15-17.
96. Чубирко, М.И. Использование метода иммуноферментного анализа в диагностике паразитарных заболеваний / М.И. Чубирко, Ю.А. Березина, И.К. Азаренкова // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. - 2014. - №58. - С. 122-126.
97. Эрдман, В.В. Возрастные особенности полиморфизма -163С/А гена СYP1A2 в трех этнических группах жителей Республики Башкортостан / В.В. Эрдман, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова // Успехи геронтологии. - 2014. - №3. - С. 25-30.
98. Этиопатогенетические аспекты рецидивного эхинококкоза печени и его диагностика / Ф.Н. Нишанов, М.Ф. Нишанов, А.К. Ботиров, А.З. Отакузиев // Вестник хирургии им.И.И.Грекова. - 2011. - №2. - С. 91-94.
99. Эффективность нокодазола при экспериментальной инвазии *Echinococcus granulosus* белых мышей / Н.А. Школяр, И.В. Кухалева, Ю.А. Легоньков, Ф.П. Коваленко // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 2014. - №2. - С. 42-46.
100. Эхинококкоз в Оренбургской области: эпидемиологические, иммунологические и таксономические аспекты / А.Г. Корнеев, М.В. Тришин, В.В. Соловых [и др.] // Актуальная инфектология. - 2014. - №4(5). - С. 46-49.

101. Эхинококкоз в практике врача / О.И. Удовикова, Е.В. Иванишкина, Л.С. Хибин [и др.] // Земский врач. - 2015. - №2(26). - С. 51-54.
102. Эхинококкоз печени / М.А. Нартайлаков, В.В. Плечев, Д.Р. Мушарапов, Г.И. Лукманова. – Уфа, 2006. – 104 с.
103. Эхинококкоз печени: современные тенденции в хирургической тактике / О.Г. Скипенко, В.Д. Паршин, Г.А. Шатверян [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. - 2011. - Т. 16, №4. - С. 34-38.
104. Эхинококкоз печени. Хирургическое лечение / В.А. Вишневский, М.Г. Ефанов, Р.З. Икрамов [и др.] // Доказательная гастроэнтерология. - 2013. – №2. - С. 18-25.
105. Эхинококкозы (гидатидозный и альвеолярный) – пограничная проблема медицинской паразитологии и хирургии (обзор и собственные наблюдения) / А.М. Бронштейн, Н.А. Малышев, С.Н. Жаров [и др.] // Российский медицинский журнал. - 2012. - №3. - С. 50-53.
106. A novel PCR-RFLP assay for molecular characterization of *Echinococcus granulosus sensu lato* and closely related species in developing countries / R. Chaabane-Banaoues [et al.] // Parasitol. Res. - 2016. - Vol. 115, №10. - P. 3817-3824.
107. A novel zoonotic genotype related to *Echinococcus granulosus sensu stricto* from southern Ethiopia / M. Wassermann [et al.] // Int. J. Parasitol. - 2016. - Vol. 46, №10. - P. 663-668.
108. A retrospective survey of human hydatidosis based on hospital records during the period of 10 years / S.R. Mousavi, M. Samsami, M. Fallah, H. Zirakzadeh // J. Parasit. Dis. – 2012. – Vol. 366 №1. – P. 7–9.
109. Abdel-Moein, K.A. Norway rat (*Rattus norvegicus*) as a potential reservoir for *Echinococcus granulosus*: A public health implication / K.A. Abdel-Moein, D.A. Hamza // Acta Parasitol. - 2016. - Vol. 61, №4. - P. 815-819.
110. Aggressive hydatid cysts: characteristics of six cases / G. Oz [et al.] // Surg. Today. - 2015. - Vol. 45, №7. - P. 864-870.

111. Albendazole-praziquantel interaction in healthy volunteers: kinetic disposition, metabolism and enantioselectivity / R.M. Lima [et al.] // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 71, №4. – P. 528–535.
112. Albendazole-sulphoxide concentrations in plasma and hydatid cyst and prediction of parasitological and clinical outcomes in patients with liver hydatidosis caused by *Echinococcus granulosus* / T. Skuhala [et al.] // *Croat. Med. J.* – 2014. – Vol. 55, №2. – P. 146–155.
113. An in vitro approach to detect metabolite toxicity due to CYP3A4-dependent bioactivation of xenobiotics / L. Vignati [et al.] // *Toxicology.* - 2005. - Vol. 216(2-3). - P. 154-167.
114. Anand, S. Management of liver hydatid cysts – Current perspectives / S. Anand, S. Rajagopalan, R. Mohan // *Med. J. Armed. Forces India.* – 2012. – Vol. 68, №3. – P. 304–309.
115. Asymptomatic intra-peritoneal rupture of hydatid cyst of the liver: case report / A.M Majbar [et al.] // *BMC Res Notes.* – 2014. – Vol. 7. – P. 114.
116. Bakal, U. Surgical and Molecular Evaluation of Pediatric Hydatid Cyst Cases in Eastern Turkey / U. Bakal, S. Simsek, A. Kazez // *Korean J. Parasitol.* – 2015. – Vol. 53, №6. – P. 785–788.
117. Biopharmaceutic evaluation of novel anthelmintic (1H-benzimidazol-5(6)-yl)carboxamide derivatives / C. Julio [et al.] // *J. Pharm.* - 2007. - Vol. 343, №1. - P. 159-165.
118. Bowles, J. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method / J. Bowles, D.P. McManus // *Mol. Biochem. Parasitol.* - 1993. - Vol. 57, №2. – P. 231-9.
119. Brunetti, E. Cystic Echinococcosis: Chronic, Complex, and Still Neglected / E. Brunetti, H.H. Garcia, T. Junghanss // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2011. - Vol. 5, №7. - P. e1146.
120. Carlos, M. Infected Hepatic Echinococcosis: Results of Surgical Treatment of a Consecutive Series of Patients / M. Carlos, U. Sebastian // *Surg. Infect.* - 2015. - Vol. 16, №5. - P. 553-557.

121. Changing paradigms in the surgical management of cystic liver hydatidosis improve the postoperative outcomes / B. Amine [et al.] // *Surgery*. - 2016. – Vol. 159, №4. – P. 1170-1180.
122. Chronic Hydatid Cyst in Malaysia: A Rare Occurrence / P.S. Hayati, C.B.T. Eugene, B.J. Jin, I.M. Rose // *Malays J. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 22, №1. – P. 79–83.
123. Comparison of surgical procedures and percutaneous drainage in the treatment of liver hydatid cysts: a retrospective study in an endemic area / S. Akkucuk [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 7, №8. - P. 2280–2285.
124. Cystic echinococcosis of the liver: A primer for hepatologists / F. Rinaldi [et al.] // *World J. Hepatol.* – 2014. – Vol. 6, №5. – P. 293–305.
125. Cystic echinococcosis: epidemiological and clinical aspects of Latvian population and review of the literature / S. Laivacuma, A. Ivanovs, A. Derovs, L. Viksna // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. - 2015. - №7(119). - С. 24-30.
126. Cystic echinococcosis: Future perspectives of molecular epidemiology / A. Ito [et al.] // *Acta Tropica*. - 2017. - Vol. 165, SI. – P. 3-9.
127. Cytochrome P450 1A1/2 induction by antiparasitic drugs: dose-dependent increase in ethoxyresorufin O-deethylase activity and mRNA caused by quinine, primaquine and albendazole in HepG2 cells / T.E. Bapiro [et al.] // *European Journal of Clinical Pharmacology*. - 2002. - Vol. 58, №8. - P. 537-542.
128. Development of a cutaneous fistula following hepatic cystic echinococcosis / S. Akay, N. Erkan, M. Yildirim, H. Akay // *Springerplus*. - 2015. - Vol. 4. - P. 538.
129. Differential Expression of Hox and Notch Genes in Larval and Adult Stages of *Echinococcus granulosus* / E.S. Dezaki [et al.] // *Korean J. Parasitol.* - 2016. - Vol. 54, №5. – P. 653-658.
130. *Echinococcus metacestode*: in search of viability markers / B. Gottstein [et al.] // *Parasite*. – 2014. – Vol. 21. – P. 63.

131. Effect of albendazole sulphoxide on viability of hydatid protoscoleces in vitro / K. Ingold [et al.] // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 1986. - Vol. 80, №5. - P. 815-7.
132. Efficacies of Albendazole Sulfoxide and Albendazole Sulfone against In Vitro-Cultivated *Echinococcus multilocularis* Metacestodes / K. Ingold [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* - 1999 – Vol. 43, №5. - P. 1052–1061.
133. Efficacy of *Myrtus communis* L. to Inactivate the Hydatid Cyst Protoscoleces / M. Hossein [et al.] // *J. Investig. Surg.* - 2016. - Vol. 29, №3. - P. 137-143.
134. Efficacy of radical and conservative surgery for hepatic cystic echinococcosis: a meta-analysis / Y.B. He [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, №5. – P. 7039–7048.
135. El Malki, H.O. Postoperative recurrence of cystic hydatidosis: What are the predictive factors? / H.O. El Malki, A. Souadka // *Can. J. Surg.* – 2013. – Vol. 56, №3. – P. E44.
136. Epidemiology and clinical features of cystic hydatidosis in Western Sicily: A ten-year review / E. Cappello [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2013. - Vol. 19, №48. - P. 9351–9358.
137. Evaluation and Comparison of the Early Outcomes of Open and Laparoscopic Surgery of Liver Hydatid Cyst / A.J. Nooghabi [et al.] // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* - 2015. - Vol. 25, №5. – P. 403-407.
138. Excretory/secretory products in the *Echinococcus granulosus* metacestode: is the intermediate host complacent with infection caused by the larval form of the parasite? / G.B. dos Santos [et al.] // *Int. J. Parasitol.* - 2016. - Vol. 46, №13-14. - P. 843-856.
139. Fatin, R. Hydatid Cyst: Open or Laparoscopic Approach? A Retrospective Analysis / R. Fatin, M.D. Polat // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* - 2012. - Vol. 22, №3. - P. 264–266.
140. First molecular evidence of the simultaneous human infection with two species of *Echinococcus granulosus* sensu lato: *Echinococcus granulosus* sensu

- stricto and *Echinococcus Canadensis* / M. Oudni-M'rad [et al.] // *Parasitol. Res.* - 2016. - Vol. 115, №3. - P. 1065-1069.
141. Frequencies of genetic polymorphisms related to triptans metabolism in chronic migraine Giovanna Gentile / S. Missori [et al.] // *J. Headache Pain.* - 2010. - Vol. 11. - P. 151–156.
142. Gene flow for *Echinococcus granulosus* metapopulations determined by mitochondrial sequences: A reliable approach for reflecting epidemiological drift of parasite among neighboring countries / M. Mahami-Oskouei [et al.] // *Exp. Parasitol.* - 2016. - Vol. 171. - P. 77-83.
143. Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia / S.V. Konyaev [et al.] // *Parasitology.* - 2013. - Vol. 140. – P. 1637-1647.
144. Genetic variability of *Echinococcus granulosus* complex in various geographical populations of Iran inferred by mitochondrial DNA sequences / A. Spotin [et al.] // *Acta Tropica.* - 2017. - Vol. 165, SI. – P. 10-16.
145. Giri, S. A review on diagnostic and preventive aspects of cystic echinococcosis and human cysticercosis / S. Giri, S.C. Parija // *Trop. Parasitol.* – 2012. – Vol. 2, №2. – P. 99–108.
146. Hepatic echinococcosis: Clinical and therapeutic aspects / G. Nunnari [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18, №13. – P. 1448–1458.
147. High-resolution phylogeography of zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto genotype G1 with an emphasis on its distribution in Turkey, Italy and Spain / L. Kinkar Laurimae [et al.] // *Parasitology.* - 2016. - Vol. 143, №13. – P. 1790-1801.
148. Hydatidosis of the liver and posterior mediastinum / J.F. Quail [et al.] // *Int. J. Surg.* - 2015. - Vol. 7. - P. 26-28.
149. In vitro effect of sodium arsenite on *Echinococcus granulosus* protoscoleces / G. Xing [et al.] // *Mol. Biochem. Parasitol.* - 2016. - Vol. 207, №2. - P. 49-55.
150. In Vitro Scolicidal Effects of *Salvadora persica* Root Extract against Protoscolices of *Echinococcus granulosus* / Abdel-Azeem S. Abdel-Baki [et al.] // *Korean J. Parasitol.* - 2016. - Vol. 54, №1. - P. 61-66.

151. Inhibitory effect of albendazole and its metabolites on cytochromes P450 activities in rat and mouflon in vitro / V. Baliharova [et al.] // *Pharm. Rep.* - 2005. - Vol. 57, №1. - P. 97-106.
152. Intra-cystic concentrations of albendazole-sulphoxide in human cystic echinococcosis: a systematic review and analysis of individual patient data / F. Loetsch [et al.] // *Parasitol. Res.* - 2016. - Vol. 115, №8. – P. 2995-3001.
153. Jani, K. Spillage-free laparoscopic management of hepatic hydatid disease using the hydatid trocar canula / K. Jani // *J. Minim. Access. Surg.* – 2014. – Vol. 10, №3. – P. 113–118.
154. Justified Concern or Exaggerated Fear: The Risk of Anaphylaxis in Percutaneous Treatment of Cystic Echinococcosis - A Systematic Literature Review / A. Neumayr [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2011. – Vol. 5, №6. – P. e1154.
155. Kelly, K. Cystic diseases of the liver and bile ducts / K. Kelly, S.M. Weber // *J. Gastrointest. Surg.* - 2014. - Vol. 18, №3. - P. 627–634.
156. Laparoscopic approach for total cystectomy in treating hepatic cystic echinococcosis / H. Li [et al.] // *Parasite.* – 2014. - Vol. 21. – P. 65.
157. Laparoscopic Drainage of a Hepatic Echinococcal Cyst: A Case Report / S.B. Goldin, J.L. Mateka, M.J. Schnaus, S. Dahal // *Rep. Gastrointest. Med.* – 2011. – Vol. 2011. – P. 107087.
158. Laparoscopic Management of Hydatid Cyst of Liver with Palanivelu Hydatid System over a Period of 3 Years: A Case Series of 32 Patients / D.S. Samala [et al.] // *Ind. J. Surg.* - 2015. - Vol. 77, №3. – P. S918-S922.
159. Laparoscopic simultaneous partial pericystectomy and total cystectomy for hydatid liver cysts – case report / B. Stancu [et al.] // *Clujul Med.* – 2015. – Vol. 88, №3. – P. 415–419.
160. Laparoscopic versus open surgery for hydatid disease of the liver. A single center experience / B. Ozgur [et al.] // *Ann. Ital. Chirur.* - 2016. - Vol. 87, №3. - P. 237-241.

161. Li, W. Multiorgan resection with inferior vena cava reconstruction for hepatic alveolar echinococcosis. A case report and literature review / W. Li, H. Wu // *Medicine*. - 2016. - Vol. 95. - P. 23 (e3768).
162. Long-term outcomes of intraoperative and perioperative albendazole treatment in hepatic hydatidosis: single center experience / K. Karabulut [et al.] // *Ann. Surg. Treat. Res.* – 2014. – Vol. 87, №2. – P. 61–65.
163. Long-term Sonographic and Serological Follow-up of Inactive Echinococcal Cysts of the Liver: Hints for a “Watch-and-Wait” Approach / L. Piccoli [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2014. – Vol. 8, №8. – P. e3057.
164. Major liver resection for recurrent hydatid cyst of the liver after suboptimal treatment / V. Giovanni [et al.] // *Updat. Surg. Ital.* - 2016. - Vol. 68, №2. - P. 179-184.
165. Manterola, C. Risk factors of postoperative morbidity in patients with uncomplicated liver hydatid cyst / C. Manterola, T. Otzen, S. Urrutia // *Int. J. Surg.* - 2014. - Vol. 12, №7. – P. 695–699.
166. Marques, M.P. Albendazole metabolism in patients with neurocysticercosis: antipyrine as a multifunctional marker drug of cytochrome P450 / M.P. Marques, O.M. Takayanagui, V.L. Lanchote // *Brazil. J. Med. Biol. Res.* - 2002. - Vol. 35, №(2). - P. 261-9.
167. Medical treatment versus “Watch and Wait” in the clinical management of CE3b echinococcal cysts of the liver / F. Rinaldi [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2014. - Vol. 14. – P. 492.
168. Minimally Invasive Treatment of Liver Hydatidosis / D. Ciprian [et al.] // *J. Soc. Laparoendosc. Surg.* - 2016. - Vol. 20, №1. – P. e2016.00002.
169. Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* using formalin-fixed paraffin-embedded preparations from human isolates in unusual tissue sites / A. Hizem [et al.] // *J. Helminthol.* - 2016. - Vol. 90, №4. - P. 417-421.
170. Molecular phylogeny of Cyclophyllidea (Cestoda: Eucestoda): an in-silico analysis based on mtCOI gene / S. Sharma [et al.] // *Parasitol. Res.* - 2016. - Vol. 115, №9. - P. 3329-3335.

171. Nazligul, Y. Role of Chemotherapeutic Agents in the Management of Cystic Echinococcosis / Y. Nazligul, M. Kucukazman, S. Akbulut // *Int. Surg.* - 2015. - Vol. 100, №1. – P. 112-114.
172. Non-surgical and non-chemical attempts to treat echinococcosis: do they work? / F. Tamarozzi [et al.] // *Parasite.* – 2014. - Vol. 21. – P. 75.
173. Novel PCRs for differential diagnosis of cestodes / J.H. Roelfsema [et al.] // *Exp. Parasitol.* - 2016. - Vol. 161. - P. 20-26.
174. Open or laparoscopic treatment for hydatid disease of the liver? A 10-year single-institution experience / F. Zaharie [et al.] // *Surg. Endosc.* – 2013. – Vol. 27, №6. – P. 2110–2116.
175. Pazarci, O.Z. Treatment of Bifocal Cyst Hydatid Involvement in Right Femur with Teicoplanin Added Bone Cement and Albendazole / O.Z. Pazarci, O.B. Oztemur, O. Bulut // *Case Rep. Orthop.* – 2015. – P. 824824.
176. Peritoneal and hepatic hydatid disease causing major bile duct destruction / V. Vieira, H. Alexandrino, E. Furtado, F. Martinho // *J. Surg. Case Rep.* – 2012. – Vol. 4. – P. 6.
177. Platelet function parameters in management of hepatic hydatid disease: a case-controlled study / B. Dinc [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, №3. – P. 3869–3875.
178. Polat, F.R. Hydatid Cyst: Open or Laparoscopic Approach? A Retrospective Analysis / F.R. Polat // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* - 2012. - Vol. 22, №3. – P. 264-267.
179. Polymorphisms in the cytochrome P450 CYP1A2 gene (CYP1A2) in colorectal cancer patients and controls: allele frequencies, linkage disequilibrium and influence on caffeine metabolism / C. Sachse, U. Bhambra, G. Smith [et al.] // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 55, №1. – P. 68–76.
180. Postoperative recurrence of cystic hydatidosis / J. Prousalidis [et al.] // *Can. J. Surg.* - 2012. – Vol. 55, №1. – P. 15-20.

181. Post-Treatment Follow-Up Study of Abdominal Cystic Echinococcosis in Tibetan Communities of Northwest Sichuan Province, China / T. Li [et al.] // *PLoS. Negl. Trop. Dis.* – 2011. - Vol. 5, №10. – P. e1364.
182. Primary Hydatid Cyst of Umbilicus, Mimicking an Umbilical Hernia / T. Mohammadreza [et al.] // *Case Rep. Surg.* - 2016. - №9682178.
183. Proceedings of the International Symposium. Innovation for the Management of Echinococcosis Besançon / D.A. Vuitton [et al.] // *Parasite.* – 2014. – Vol. 21. – P. 28.
184. Raimkylov, K.M. Epidemiological analysis of the distribution of cystic and alveolar echinococcosis in Osh Oblast in the Kyrgyz Republic, 2000–2013 / K.M. Raimkylov, O.T. Kuttubaev, V.S. Toigombaeva // *J. Helminthol.* – 2015. – Vol. 89, №6. – P. 651–654.
185. Relative contribution of cytochromes P-450 and avin-containing monooxygenases to the metabolism of albendazole by human liver microsomes / H.C. Rawden, G.O. Kokwaro, S.A. Ward, G. Edwards // *Br. J. Clin. Pharmacol.* - 2000. - Vol. 49. - P. 313–322.
186. Reprint of "Echinococcus granulosus sensu stricto (s.s.) from the critically endangered antelope *Addax nasomaculatus* in Tunisia" / B. Boufana [et al.] // *Acta Trop.* - 2017. - Vol. 165, SI. – P. 17-20.
187. Reprint of "Survey and first molecular characterization of *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1) in Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) in Buenos Aires province, Argentina" / N. Paula Scioscia [et al.] // *Acta Trop.* - 2017. - Vol. 165, SI. – P. 21-25.
188. Repurposing drugs for the treatment and control of helminth infections / G. Panic, U. Duthaler, B. Speich, J. Keiser // *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* – 2014. – Vol. 4, №3. – P. 185–200.
189. Review of the treatment of liver hydatid cysts / C.G. Gavara [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 7, №21. – P. 124–131.
190. Robinson, T.N. Everson Laparoscopic palliation of polycystic liver disease / T.N. Robinson, G.V. Stiegmann // *Surg. Endosc.* – 2005. – № 19. – P. 130–132.

191. Role of Albendazole in the Management of Hydatid Cyst Liver / S.-U. Bari [et al.] // Saudi J. Gastroenterol. – 2011. - Vol. 17, №5. - P. 343–347.
192. Safety of the Combined Use of Praziquantel and Albendazole in the Treatment of Human Hydatid Disease / L. Alvela-Suárez [et al.] // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2014. – Vol. 7, №90. – P. 819–822.
193. Sambrook, J. Commonly used techniques in molecular cloning. Extraction with phenol: chloroform / J. Sambrook, E. Fritsch, T. Maniatis. - Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1987. - P. E3-E4.
194. Scolicidal activity of biosynthesized silver nanoparticles against *Echinococcus granulosus protoscolices* / M.T. Rahimi [et al.] // Int. J. Surg. - 2015. - Vol. 19. - P. 128-133.
195. Scolicidal and apoptotic activities of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide-loaded PLGA-PEG as a novel nanopolymeric particle against *Echinococcus granulosus protoscolices* / M. Naseri [et al.] // Parasitol. Res. - 2016. - Vol. 115, №12. - P. 4595-4603.
196. Single hydatid cyst of liver managed with laparoscopy – a case study / P. Osemek, A. Chmieliński, K. Paśnik, R. Kidziński // Wideochir. Inne Tech. Maloinwazyjne. – 2011. – Vol. 6, №4. – P. 264–267.
197. Slaughterhouse survey of cystic echinococcosis in cattle and sheep from the Republic of Moldova / O. Chihai [et al.] // J. Helminthol. - 2016. - Vol. 90, №3. - P. 279-283.
198. Sotelo, J. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of neurocysticercosis / J. Sotelo, H. Jung // Clin. Pharmacokinet. – 1998. – Vol. 34, №6. – P. 503-15.
199. Sozuer, E. Open Surgery for Hepatic Hydatid Disease / E. Sozuer, M. Akyuz, S. Akbulut // Int. Surg. - 2014. – Vol. 99, №6. – P. 764–769.
200. Surgical management of hydatid liver disease / G.K. Georgiou [et al.] // Int. J. Surg. - 2015. - Vol. 20. – P. 118-122.
201. Surgical management of symptomatic hydatid liver disease: experience from a Western centre / G. Martel [et al.] // Can. J. Surg. – 2014. – Vol. 57, №5. – P. 320–326.

202. Surgical Resection of Hepatic Cystic Echinococcosis Impaired by Preoperative Diagnosis / T. Yasuda [et al.] // *Case Rep. Med.* – 2013. – P. 271256.
203. Surgical treatment of hepatic hydatid cysts. A retrospective analysis of 425 patients / Y. Yusuf [et al.] // *Ann. Ital. Chirurg.* - 2015. - Vol. 86, №5. – P. 437-441.
204. The Comparison of 2 New Promising Weapons for the Treatment of Hydatid Cyst Disease: PAIR and Laparoscopic Therapy / X. Chen [et al.] // *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Techn.* - 2015. - Vol. 25, №4. – P. 358-362.
205. The first meeting of the European Register of Cystic Echinococcosis (ERCE) / P. Rossi [et al.] // *Heracles Extended Network. Parasites & Vectors.* - 2016. - Vol. 9. – P. 243.
206. The results of surgical treatment for hepatic hydatid disease / S. Sözen, S. Emir, M. Tükenmez, Ö. Topuz // *Hippokratia.* – 2011. – Vol. 15, №4. – P. 327–329.
207. The Role of Perioperative Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography and Biliary Drainage in Large Liver Hydatid Cysts / A. Krasniqi [et al.] // *Sci. World J.* – 2014. – P. 301891.
208. The symposium on management of liver hydatid cyst – Current prospective: An addendum / A.K. Pujahari [et al.] // *Med. J. Armed Forces India.* – 2013. – Vol. 69, №1. – P. 100–100.
209. Treatment of echinococcosis: albendazole and mebendazole – what else? / A. Hemphill [et al.] // *Parasite.* – 2014. – Vol. 21. - P. 70.
210. Ultrasound examination of the hydatid liver / H.A. Gharbi [et al.] // *Radiology.* — 1981. — Vol. 139. — P. 459-463.
211. Unusual locations of hydatid disease: a 33 years' experience analysis on 233 patients / G.D. Lianos [et al.] // *Updat. Surg. Ital.* - 2015. - Vol. 67, №3. – P. 279-282.
212. Unusually located primary hydatid cyst / A. Nihat [et al.] // *Turk. J. Surg.* - 2016. - Vol. 32, №2. - P. 130-133.
213. Walker, J.M. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / J.M.

- Walker // *Methods in Molecular Biology*. - New York; London, 1984. – Vol. 2. – P. 31-34.
214. World review of laparoscopic treatment of liver cystic echinococcosis – 914 patients / T. Tuxun [et al.] // *Int. J. Infect. Dis.* - 2014. - Vol. 24. - P. 43–50.
215. Zheng, X. Rare presentation of multi-organ abdominal echinococcosis: report of a case and review of literature / X. Zheng, Y. Zou, C. Yin. // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* - 2015. – Vol. 8, №9. - P. 11814–11818.