

На правах рукописи

Терюшкова Жанна Ивановна

**НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ ПОСТЛУЧЕВЫХ
ПОВРЕЖДЕНИЙ ПРЯМОЙ КИШКИ**

3.1.9 Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Уфа – 2021

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

Научный консультант:

Чл.-корр. РАН, доктор
медицинских наук,
профессор

Тимербулатов Виль Мамилович

Официальные оппоненты:

Алиев Фуад Шамильевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Грошин Виталий Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней №2 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Муравьев Александр Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Минздрава России

Защита диссертации состоится _____ 2021г. в _____⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 21.2.004.01 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России и на сайте www.bashgmu.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2021 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Сатаев Валерий Уралович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Лучевые повреждения прямой кишки встречаются у 5-10% пациентов, как прогрессирование острого проктита, либо через 3 и более месяцев после проведенной лучевой терапии органов малого таза примерно у 9-55% больных, не имевших острых проявлений заболевания [Белохвостикова Т.С. и соавт., 2015; Грошили В.С. и соавт., 2016]. В основе патогенеза лежит атрофия слизистой оболочки, постепенно появляются эрозии и язвы, являющиеся причиной кишечных кровотечений, свищей. Поздние лучевые повреждения часто имеют упорное течение, слизистая кишки восстанавливается медленно [Буяновская О.А., 2013].

Лечение постлучевых повреждений прямой кишки – сложная медицинская проблема. Основными постлучевыми повреждениями прямой кишки являются постлучевые язвы, постлучевой проктит, постлучевой ректовагинальный свищ. Наиболее трудно лечению поддаются ректовагинальные свищи [Гильмутдинова И.Р. и соавт., 2019].

К настоящему времени стандартная терапия, клинические рекомендации по лечению постлучевых повреждений прямой кишки не разработаны. Имеющиеся лечебные подходы основаны на опыте отдельных медицинских центров, клинических случаев и исследований с малой выборкой пациентов. Терапия лучевых повреждений прямой кишки включает 3 основных подхода: медикаментозная терапия, эндоскопическое лечение, хирургическое лечение [Визир В.А., 2015].

Ректовагинальные свищи являются сложной социальной проблемой, вызывают дезадаптацию, ведут к тяжелым моральным и физическим страданиям пациентки, ставят ее в сложное взаимоотношение с семьей и окружающими [Грошили В.С. и соавт., 2016].

Несмотря на большое количество оперативных вмешательств, число рецидивов и послеоперационных осложнений не имеет тенденции к снижению [Грошилин В.С. и соавт., 2015].

Хирургическое лечение требуется до 10-15% больных, но при этом отмечается высокий уровень сложности операций и высокий риск осложнений (15-80%) и смертности до 3-25%. Основной причиной этого является отсутствие индивидуального подхода к определению способа хирургического лечения ректовагинальных свищей, что побуждает к поиску более новых хирургических технологий и разработки алгоритмов лечения [Грошилин В.С. и соавт., 2016].

Кроме того, любое хирургическое вмешательство в условиях пониженного иммунитета и нарушенных репаративных способностей организма, ассоциировано с высоким риском развития осложнений [Грошилин В.С. и соавт., 2015]. В связи с этим, актуальным является поиск новых методов лечения данной категории больных, основанных на современных достижениях регенеративной хирургии.

Неудачи лечения обусловлены не только анатомо-функциональными особенностями зоны операции, но и несовершенством тактических принципов выбора способа операции [Алиев Ф.Ш. и соавт., 2020].

К настоящему времени накоплен клинический опыт успешного использования микроинъекционной аутотрансплантации тканей (липографтинг, липофилинг) для лечения поздних лучевых повреждений мягких тканей различной локализации [Васильев В.С. и соавт., 2018; Дисаи Д.Ф., 2012; Perrot P. и соавт., 2019; Pitel S. и соавт., 2011; Rigotti G. и соавт., 2017]. Учитывая, что единого стандарта лечения больных с постлучевыми повреждениями прямой кишки нет, и эти повреждения причиняют пациенткам много страданий, вышеуказанный метод лечения может широко применяться для лечения пациенток с постлучевыми осложнениями прямой кишки.

Таким образом, разработка и применение методики лечения больных с постлучевыми повреждениями прямой кишки с использованием аутологичных регенеративных клеток жировой ткани в условиях клиники, позволит в краткие сроки объективно оценить соматический статус пациента, степень операционного риска, выбрать наиболее адекватную тактику лечения, прогнозировать исход лечения в каждом конкретном случае, а также даст высокие клинические результаты (устранение воспаления, эпителизация дефекта), позволит повысить качество жизни пациентов. Кроме того, применение СВФ позволит не просто устранить патологию, но и предотвратить дальнейшие рецидивы за счет стимуляции регенераторных возможностей пораженных тканей, а также за счет достижения иммуностимулирующего, противовоспалительного эффекта.

Цель исследования: улучшение результатов лечения и повышение качества жизни пациентов с поздними лучевыми повреждениями прямой кишки.

Задачи исследования

1. Рассмотреть этиологические, патогенетические механизмы развития постлучевых повреждений прямой кишки, их классификацию, стадийность, клиническую картину и симптоматику, алгоритмы диагностики и лечения.
2. Охарактеризовать специфику лучевых проктитов, лучевых язв и ректовагинальных свищей как основных осложнений лучевой терапии.
3. Проанализировать алгоритмы лечения различных видов лучевых повреждений прямой кишки, определить их эффективность.
4. Провести анализ факторов, влияющих на приживление жиров трансплантата, оценку регенераторного потенциала аутологичных регенераторных клеток и изучить регенераторные характеристики липоаспирата.
5. Разработать и апробировать методику микроинъекционной аутотрансплантации тканей на основе СВФ жировой ткани и определить ее эффективность в лечении различных патологических состояний (поздние

лучевые повреждения прямой кишки: лучевой проктит, лучевая язва, ректовагинальный свищ).

6. Сформулировать практические рекомендации по применению микроинъекционной аутотрансплантации тканей на основе СВФ жировой ткани в лечении постлучевых повреждений прямой кишки.

Научная новизна исследования

Получен патент № 2 597 320 на лечение ПЛППК методом микроинъекционной аутотрансплантации жировой ткани. Разработан и предложен научно обоснованный подход к решению проблемы лечения пациентов с поздними постлучевыми повреждениями прямой кишки, возникшими после лучевой терапии органов малого таза. Впервые проведено комплексное лабораторное исследование основных показателей липоаспирата после проведения липографтинга. Патогенетически обоснована необходимость использования липографтинга и стромально-васкулярной фракции жировой ткани у пациентов с поздними лучевыми повреждениями прямой кишки. Впервые произведено лечение постлучевых повреждений прямой кишки с использованием микроинъекционной аутотрансплантации регенеративных клеток жировой ткани.

Второй патент № 2686434 Способ эндоскопического лечения внутренних дефектов желудочно-кишечного тракта.

Впервые использовали применение аутологичного жирового трансплантата с обогащением его стромально-васкулярной фракцией для лечения внутренних дефектов желудочно-кишечного тракта.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Сформулированы практические рекомендации по применению метода микроинъекционной аутотрансплантации жировой ткани для лечения поздних постлучевых повреждений прямой кишки, выделены показания и противопоказания к процедуре. Метод получил апробацию и научное обоснование, что позволяет использовать его для лечения постлучевых повреждений прямой кишки, для повышения качества жизни пациенток с

данным диагнозом. Результаты исследования могут быть интегрированы в стандарты оказания медицинской помощи. Результаты диссертационного исследования позволяют расширить имеющиеся представления о проблеме лечения таких постлучевых повреждений прямой кишки, как постлучевой проктит, постлучевые язвы, ректовагинальный свищ. Результаты свидетельствуют о необходимости использования липографтинга в составе комплексной терапии данной категории больных, расширяют возможности лечения пациентов с поздними постлучевыми повреждениями прямой кишки.

Положения, выносимые на защиту

1. Основными причинами развития постлучевых язв, свищей являются лучевые поражения слизистой оболочки прямой кишки. Частота данных осложнений составляет 9-12 % к числу больных с раком раки шейки матки, прямой кишки и 2-3% к числу больных, подвергнутых облучению.

2. Ведущими факторами, влияющими на приживление жиров трансплантат, являются биохимические и иммунологические характеристики организма, его регенераторный потенциал. Регенераторный потенциал аутологических клеток их способностью к дифференциации.

3. Показаниями к микроинъекционной ауотрансплантации жировой ткани являются постлучевые, рецидивирующие виды язв, свищей. Данная методика противопоказана при прогрессирующем раке, активном воспалительном процессе, заболеваниях крови, так как это снижает эффективность процедуры и повышает риск развития осложнений.

4. Предложенный оригинальный способ (патент N 2 597 320) на проведение микроинъекционной ауотрансплантации жиров ткани основан на применении стромально-васкулярной фракции (СВФ), и в отличие от известных методов позволяет восстановить поврежденную ткань за счет развития регенераторной ткани, снятия воспалительного процесса, нормализации иммунологических и биохимических показателей.

5. Сравнительный статистический анализ клинической и экономической эффективности различных методов показал, что закрытие дефекта наступает в среднем в течении 6-12 месяцев. Процедура проходила без осложнений, без необходимости повторной госпитализации. В среднем пациенткам понадобилось 2-3 инъекции. Рецидивов не наблюдалось.

6. Разработанные алгоритмы проведения липографтинга позволяют научно обоснованно в различных клинических ситуациях выбрать оптимальную методику лечения свища, язвы постлучевого генеза.

Внедрение результатов работы в практику

Разработанные практические рекомендации используются в работе колопроктологического отделения муниципального автономного учреждения здравоохранения Ордена Знак Почета городской клинической больницы №8 (г.Челябинск), онкопроктологического отделения Челябинского областного клинического центра онкологии и ядерной медицины (г.Челябинск), отделения гнойной хирургии государственного автономного учреждения здравоохранения областной клинической больницы №3 (г.Челябинск) Теоретические положения и практические рекомендации диссертации используются в процессе обучения студентов педиатрического и лечебного факультетов на кафедре онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов диссертации подтверждена достаточным объемом клинических исследований, использованием сертифицированных расходных материалов и приборов, контролем всех иммуногистологических исследований при помощи негативного контроля, корректным анализом и интерпретацией полученных результатов, статистической обработке данных, исходя из принципов доказательной медицины.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены на Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы хирургической помощи» (Уфа 2016); на Всероссийском съезде

колопроктологов (Астрахань 2016), III национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва 2017), Научно-практической конференции «Актуальные вопросы колопроктологии», Научно-практической конференции Приволжского федерального округа «Актуальные вопросы колопроктологии» (Воронеж 2018), XXII Российском онкологическом конгрессе (Москва 2018); 13-ом научном ежегодном совещание Европейского общества колопроктологии (Ница 2018), Первом интернациональном симпозиуме NOSES по лечению колоректального рака (Пекин 2019).

По результатам исследования получено 2 патента:

1. Способ лечения постлучевых ректовагинальных свищей: пат 2597320 Российская Федерация; МПК₈/ Васильев В.С., Терюшкова Ж.И.; заявитель и патентообладатель(ли): Васильев Вячеслав Сергеевич, Терюшкова Жанна Ивановна. - № 2015140799: заявл.24.09.15.

2. Способ эндоскопического лечения внутренних дефектов желудочно-кишечного тракта: пат 2686434 Российская Федерация; МПК₈/ Васильев В.С., Терюшкова Ж.И., Ныжник Л. М.; заявитель и патентообладатель(ли): Васильев Вячеслав Сергеевич, Терюшкова Жанна Ивановна, Ныжник Леонид Михайлович. - № 2018111149: заявл.28.03.18.

Публикации

По теме и материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ в научных рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК МОН РФ, получено 2 патента.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 196 страницах машинописного текста и состоит из введения, аналитического обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждений собственных исследований, заключения, практических рекомендаций, списка используемой литературы. Всего использовано 136 источников литературы,

из них 94 русскоязычных, 42 - иностранных. Работа иллюстрирована 25 таблицами, 28 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», ГБУЗ "Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины" и МАУЗ ОЗП ГKB №8 в период с 2016 по 2019 гг.

Пациенты принимали участие в проекте на протяжении года; наблюдение за каждым пациентом продолжалось еще 6 месяцев. Таким образом, общая продолжительность клинической работы составляет 18 месяцев; общая продолжительность проекта, включая подготовительный этап и написание отчета - 24 месяца.

В исследовании приняло участие 66 пациентов – женщины в возрасте от 28 до 83 лет включительно с осложнениями лучевой терапии (ректовагинальные свищи, лучевые проктиты, лучевые язвы). Все пациентки получали лечение по поводу основного заболевания – рака шейки матки (в виде лучевой терапии). Все испытуемые были разделены на 2 группы – основная и контрольная. Пациенткам основной группы в количестве 33 человека, было проведено лечение с использованием метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей. В основную группу попали пациентки, которые соответствовали критериям включения в исследование, и не попадали под критерии исключения.

Было выбрано открытое, пилотное несравнительное когортное исследование. Данный дизайн является наиболее подходящим для первого опыта использования нового метода лечения.

Изучаемый (исследуемый) метод лечения: аутологичные регенеративные клетки жировой ткани (adipose-derived regenerative cells, ADRC), полученные путем ферментативной обработки жировой ткани,

вводятся однократно в ректовагинальную перегородку под визуальным контролем.

Каждая пациентка проходила обследование, как минимум, 5 раз (5 визитов). 1-й визит в день манипуляции (визит включает подготовку аутологичных регенеративных клеток жировой ткани (adipose-derived regenerative cells, ADRC) и их инъекцию, дальнейшее наблюдение в течение 5 дней, выписка из стационара на 4-5 день). Затем 2 визит через месяц; 3 визит через три месяца; 4 визит через шесть месяцев; 5 визит через год.

Условно все методы исследования, применяемые в ходе обследования пациенток, можно разделить на отдельные группы: сбор анамнеза, методы клинической диагностики, методы инструментальной диагностики, методы функциональной диагностики, методы лабораторной диагностики, микробиологические, бактериологические, цитологические, морфологические и гистологические методы исследования, метод иммуногистохимии (ИГХ), методы определения жизнеспособности клеток, методы оценки качества жизни пациента. Все используемые в работе методы соответствуют принципам доказательной медицины.

Для контроля была задействована контрольная группа. В контрольной группе проводилась стандартная терапия (медикаментозная, при ее неэффективности – применялись хирургические методы). Метод определяли в зависимости от тяжести патологии:

- I степень – консервативная терапия;
- II степень – хирургическая коррекция, резекция зоны повреждения;
- III степень – резекция органа;
- IV степень – удаление органа, возможна реконструкция;
- V степень – удаление органа, его реконструкция невозможна.

Большинству пациенток перед выполнением манипуляции требовалась постановка превентивной колостомы.

Для обработки полученных данных использовались стандартные математико-статистические методы. Данные обрабатывались в программах SPSS, M. Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Анализ анамнестических данных пациенток, получавших лечение по поводу постлучевых повреждений прямой кишки методом микроинъекционной аутотрансплантации тканей

Нами был проанализирован анамнез пациенток, выделены основные характеристики постлучевых осложнений прямой кишки. Полученные данные были обобщены, сведены в сводные таблицы. Все полученные нами результаты сопоставляли с уже имеющимися литературными данными. На этапе анализа данных анамнеза пациентов, установили, что средний возраст пациенток составляет 54 ± 10 лет. Эти данные сопоставимы с литературными данными, где отмечается средний возраст 49 ± 3 года. На этапе изучения анамнеза пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки, установили преобладание трех типов постлучевых осложнений: ректовагинальный свищ, лучевой проктит, лучевые язвы. Среди всех пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки, преобладают женщины с постлучевым ректовагинальным свищем. Данная патология отмечается у 24 пациенток, что составляет 62,4%. На втором месте по частоте встречаемости – постлучевая язва прямой кишки, которая диагностирована у 9 человек, что составляет 23,4%. На третьем месте – лучевые проктиты, которые наблюдаются у 5 человек, что составляет 13,2%.

Далее нами были проанализированы основные жалобы, предъявляемые пациентками с постлучевыми повреждениями прямой кишки. Как показывает анализ анамнеза, большой вариабельностью жалобы не отличаются, все они примерно сходны.

Пациентки жалуются на дискомфорт, зуд и жжение в области влагалища. Дизурические расстройства, такие, как воспалительные процессы

в области мочевыделительного канала, частые позывы к мочеиспусканию, ложные позывы, болезненное и затрудненное мочеиспускание, отмечается примерно у 43,5% женщин. Наименее выраженными симптомами являются изолированные слизистые выделения из влагалища (симптомы кольпита). Боли внизу живота, обильные выделения из влагалища и симптомы интоксикации наблюдались только в 26,6% случаев. Повышение температуры тела отмечалось только в 50% случаев.

Далее нами были проанализированы основные этиологические и предрасполагающие факторы, повышающие риск развития постлучевых повреждений прямой кишки. Как показывает анализ анамнеза, во всех 100% случаев развитию лучевых повреждений прямой кишки предшествует лучевая терапия.

На этапе формирования выборки, нами был проведен детальный анализ анамнеза, историй болезни пациенток, включенных в исследование. В первую очередь, был проведен анализ на предмет соответствия критериям включения и отсутствия на момент проведения лечения критериев исключения. Также нами был подробно изучен весь анамнез болезни пациенток, как по основному заболеванию, так и по осложнениям, которые развились после перенесенной лучевой терапии с целью отследить динамику и этапность развития заболевания, а также отметить, наличие показаний и противопоказаний к проведению терапии с использованием разработанного нами метода.

Анализ клинических случаев позволяет заключить, что все пациентки с постлучевыми повреждениями прямой кишки могут быть включены в выборку для проведения лечения с использованием разработанного нами способа лечения постлучевых повреждений с применением аутологичных регенеративных клеток жировой ткани.

Возраст женщин – от 28 до 83 лет. У всех пациенток диагноз постлучевое повреждение прямой кишки подтвержден. У всех пациенток диагностирован и подтвержден рак органов малого таза, по поводу которого

они получали лучевую терапию. В качестве основного осложнения выступает постлучевой ректовагинальный свищ, реже – постлучевая язва.

Также есть случаи постлучевого эпителиита некротического характера. Данную пациентку также считаем возможным включить в исследование. У одной пациентки (В.А.А), ректовагинальный свищ развился в качестве постлучевого осложнения на фоне лучевой терапии и хирургического вмешательства по поводу рака прямой кишки. Так, ей была проведена операция в объеме резекции прямой кишки. Послеоперационный период протекал с формированием ректовагинального свища (выписной эпикриз №3288/15 а/к/ 4909-13). Отмечались множественные рецидивы и отсутствие положительной динамики в лечении. Пациентке рекомендована операция МАЖТ - микроинъекционная аутотрансплантация жировой ткани в ректовагинальную перегородку.

В большинстве случаев приведенные данные демонстрируют прогрессирующее ухудшение состояния (от легкого или среднетяжелого течения постлучевых повреждений, воспалительных процессов, до развития стойких рецидивирующих постлучевых язв и ректовагинального свища).

При лечении традиционными способами положительного эффекта не наблюдается, у большинства отмечается постепенное ухудшение состояния, множественные рецидивы. От проявления первых признаков лучевого поражения прямой кишки до формирования свища или язвы в среднем проходит от 6 месяцев до 1-2 лет. Исключение – пациентка Ф.Н.А. - от последней лучевой терапии до постановки диагноза постлучевая язва прямой кишки прошло 6,5 лет. Большинству пациенток выполнены различные виды колостомии. Колостомы функционируют хорошо.

У всех пациенток диагноз (постлучевые повреждения прямой кишки) установлен не ранее 6 месяцев после прохождения последнего курса лучевой терапии. Рецидив основного заболевания у всех отсутствует за все время наблюдения. Злокачественные новообразования прямой кишки, анального

канала отсутствуют. Состояний, требующих срочного хирургического вмешательства ни у кого из пациенток нет.

При оценке качества жизни пациенток, нами был установлен низкий уровень качества жизни у всех пациенток. Таким образом, у указанных пациенток противопоказаний к проведению лечения с использованием аутологичных регенеративных клеток жировой ткани (adipose-derived regenerative cells, ADRC), не было. Лечение было проведено в плановом порядке. Также нами была проведена оценка качества жизни пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки до начала лечения. Результаты показывают низкий уровень качества жизни у большинства пациентов.

**Оценка показателей эпителизации постлучевых осложнений
прямой кишки в процессе лечения методом микроинъекционной
аутотрансплантации**

Для оценки эффективности эпителизации основных постлучевых повреждений прямой кишки, нами был оценен диаметр дефектов прямой кишки в динамике: до процедуры, спустя 3 месяца после процедуры и спустя 6 месяцев после процедуры. Учитывалось среднее значение диаметра дефекта и основные статистически значимые показатели. Результаты математико-статистического анализа изменения диаметра постлучевого дефекта прямой кишки представлены в таблице 1.

Таблица 1. - Сводные данные по показателям эпителизации ректовагинальных свищей и язв в динамике, N = 33

Показатель	До процедур	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Полная эпителизация	Количество инъекций
Среднее значение	1,67	1,39	1,1	через 1 год	3
Минимум	0,4	0,1	0	через 6 месяцев	2
Максимум	4	1,5	1,8	через 2	5

				года	
Медиана	1,5	0,25	0,05	-	3
Асимметрия	5,5890129 99	5,7949924 34	5,8019264 87	-	5,7084664 84
Стандартное отклонение	0,54	0,56	0,56	-	0,51

Как видно из таблицы, отмечается тенденция к улучшению состояния. Так, если до процедуры средние размеры свищей и язв составляли $1,67 \pm 0,54$ см в диаметре, то через 3 месяца эти показатели составили $1,39 \pm 0,54$, а через 6 месяцев – $1,1 \pm 0,56$ см. Полная эпителизация дефекта наблюдалась у всех пациенток. Период, за который удалось достичь полной эпителизации, варьирует в пределах от 6 месяцев до 2 лет. Так, у большинства пациенток полная эпителизация наблюдалась уже через 1 год. У многих пациенток, в зависимости от размера и степени тяжести патологии, полная эпителизация происходила уже спустя 6 месяцев, и только у одной пациентки, состояние которой было наиболее тяжелое, полной эпителизации удалось достичь спустя 2 года. В среднем, для достижения полной эпителизации постлучевого повреждения прямой кишки, большинству пациенток потребовалось 3 инъекции аутологичной жировой ткани. В наиболее тяжелых случаях применялось 5 инъекций. Минимальное число инъекций, которое потребовалось для достижения полной эпителизации, составило 2 инъекции.

Для большей наглядности данные представлены на рисунке 1.

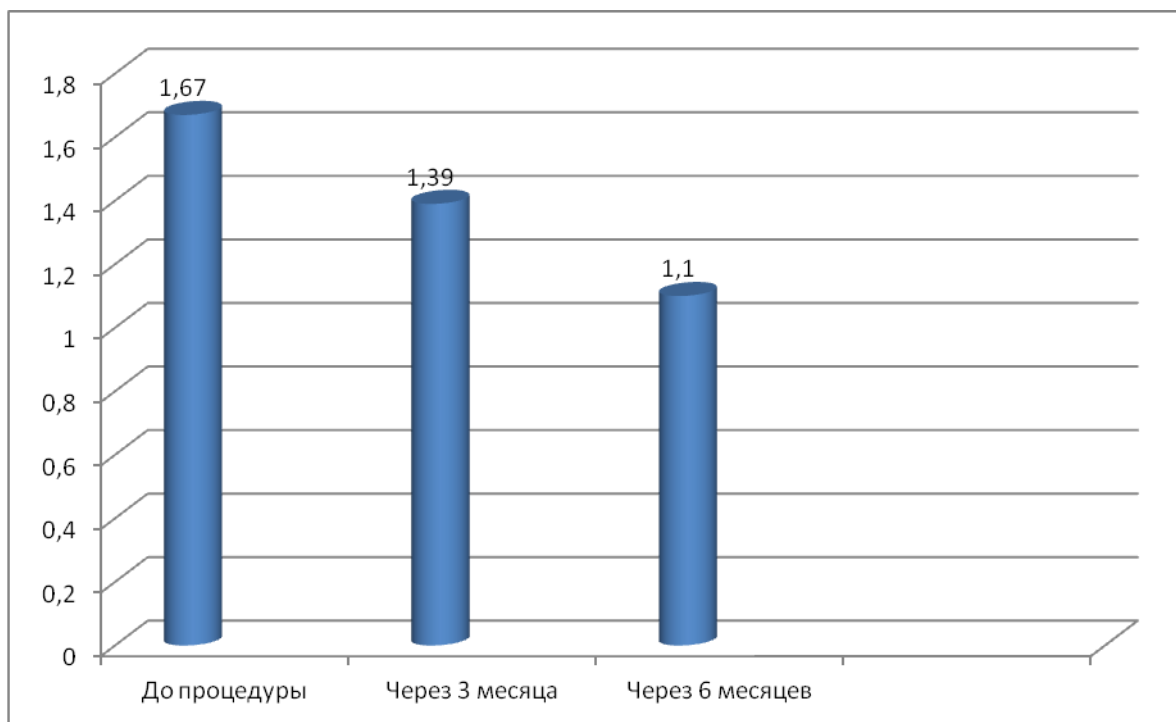


Рисунок 1. - Показатели эпителизации свищей и язв в динамике (размер дефекта, см)

Как видно из диаграммы, отмечается положительная тенденция, размер свища или язвы постепенно уменьшается, вплоть до полной эпителизации дефекта. Так, до проведения процедуры диаметр дефекта составлял в среднем 1,67 см. спустя 3 месяца эти показатели сократились до 1,39 см, а через 6 месяцев размер дефекта составлял в среднем 1,1 см.

Далее нами был проанализирован средний период времени, который потребовался для достижения полной эпителизации дефекта, возникшего в результате постлучевого повреждения прямой кишки (таблица 2).

Таблица 2. - Период наступления полной эпителизации свищей и язв, N = 33

Срок эпителизации	Количество пациентов	
	Абсолютное число	Процент
Через 1 год	17	51,5
Через 6 месяцев	15	45,5
Через 2 года	1	3
Эпителизации не наступило	0	0

Рецидивы	0	0
Всего	33	100

Как видно из таблицы, полной эпителизации удалось достичь всем пациенткам. Для наглядности данные представлены на рисунке 2.

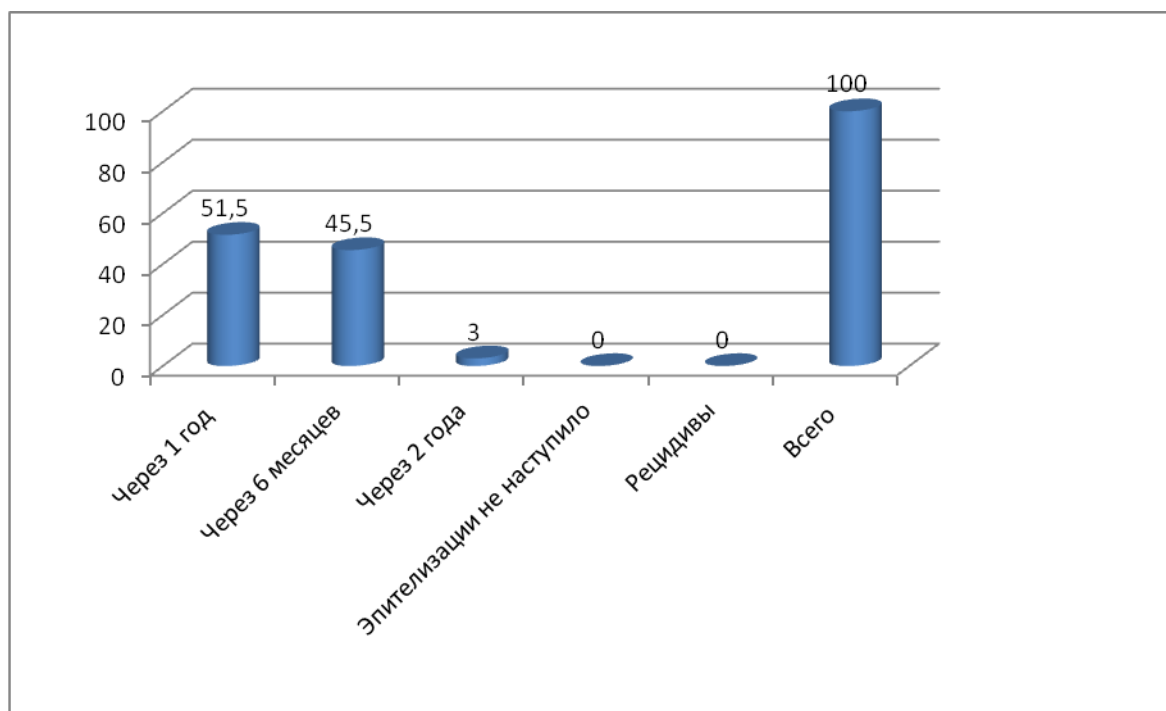


Рисунок 2. - Сроки наступления полной эпителизации свищей и язв, % пациентов

Как видно из диаграммы, полной эпителизации удалось достичь всем пациенткам, вне зависимости от размера дефектов и степени тяжести патологии. При этом, рецидивов не наблюдалось ни у одной пациентки. При этом, стоит отметить, что в 51,5% случаев полной эпителизации дефекта удалось достичь уже через 1 год после начала лечения. Примерно в 45,5 % случаев полная эпителизация наступала через 6 месяцев после начала лечения. И только у одной пациентки с наиболее сложной патологией, полной эпителизации удалось достичь только спустя 2 года после проведения первой процедуры.

Далее нами был проведен корреляционный анализ и высчитана тенденция эпителизации дефектов прямой кишки. Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 4.4. Коэффициент корреляции имеет следующие свойства: $-1 \leq r \leq 1$ Если $r = 1$ – означает наличие корреляционной зависимости между данными. Если $r = -1$, то присутствует отрицательная корреляция. Если $r = 0$, корреляционная связь отсутствует. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. - Корреляционный анализ

До процедуры	Спустя 3 месяца	Спустя 6 месяцев
1		
0,457830247	1	
0,340193837	0,035266049	1

Как видно из таблицы, прослеживается положительная корреляционная зависимость между показателями, полученными до проведения процедуры, и показателями, полученными спустя 3 месяца после проведенной процедуры.

Также прослеживается корреляционная зависимость между показателями, полученными спустя 3 месяца после проведения процедуры, и спустя 6 месяцев после процедуры. Все это указывает на наличие положительной динамики в лечении, и свидетельствует об эффективности проведенной терапии с применением аутологичной жировой ткани.

Анализ не выявил статистически значимой корреляции для следующих характеристик:

- рубцевание на ректовагинальной перегородке перед лечением и уменьшение размеров свища и степени фиброза;
- начальный диаметр свища и скорость уменьшения размера;
- характеристики вводимых материалов (объем жира / количество жизнеспособных клеток СВФ) и скорость заживления.

Далее нами была выявлена тенденция эпителизации постлучевых повреждений прямой кишки спустя 3 месяца и спустя 6 месяцев после проведения процедуры. Анализ трендов представлен на рисунке 3 и рисунке 4.

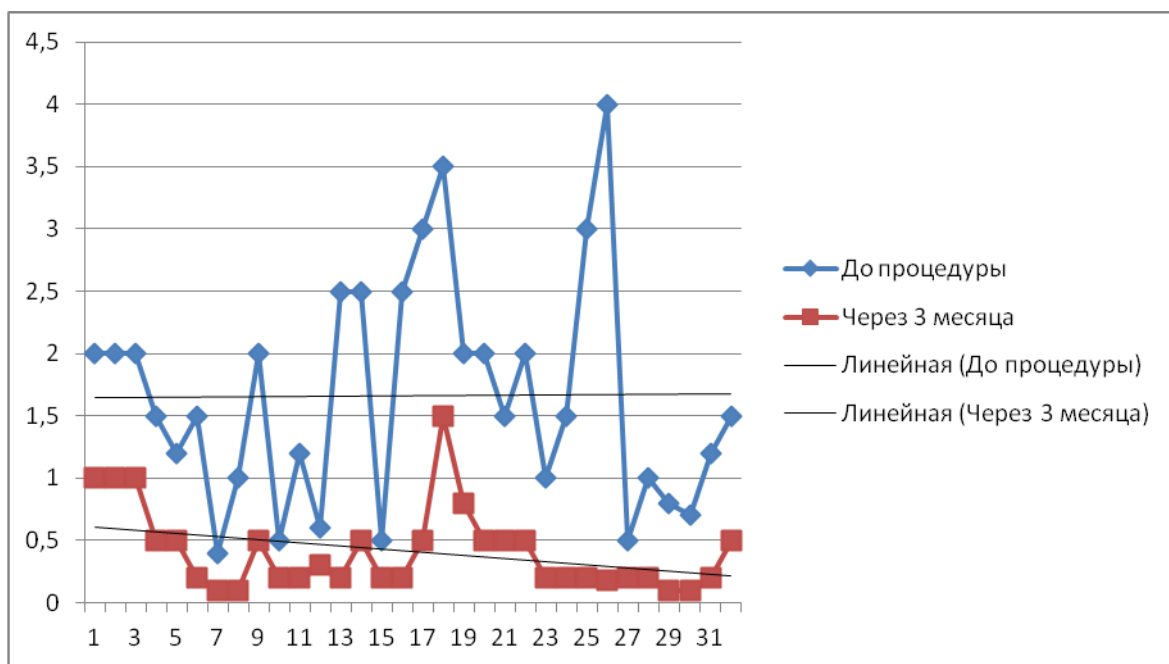


Рисунок 3. - Тенденция эпителизации постлучевых повреждений прямой кишки через 3 месяца (показатель тенденции = 2,780169041)

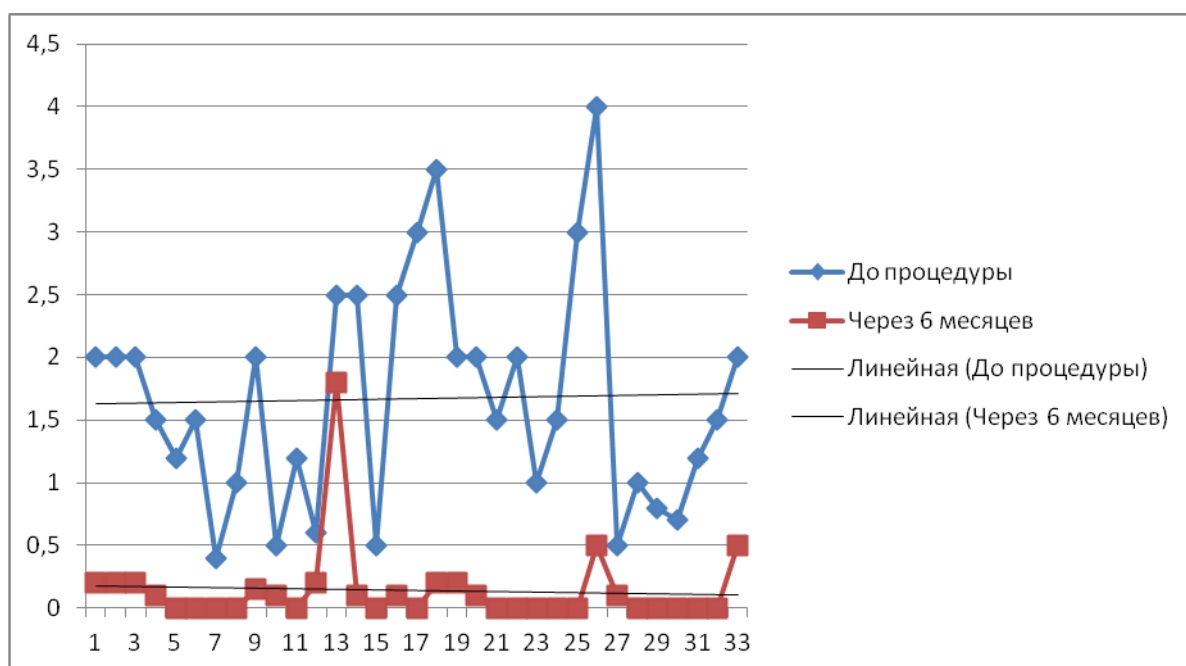


Рисунок 4. - Тенденция эпителизации постлучевых повреждений прямой кишки через 6 месяцев (показатель тенденции = 0,549908)

Как видим из данных, представленных на диаграммах, отмечается тенденция к устойчивому снижению размеров дефекта прямой кишки спустя 3 месяца, и спустя 6 месяцев. По сравнению с данными, полученными до проведения процедуры, спустя 3 месяца уже наметилась тенденция к снижению размеров дефекта в 2-3 раза. Линия тренда показывает тенденцию к дальнейшему снижению показателей до размера дефекта 0,3 см и ниже. Спустя 6 месяцев наблюдается устойчивая тенденция к снижению диаметра дефекта постлучевых повреждений примерно в 3-4 раза по сравнению с исходными данными. Аналогично предыдущей диаграмме, сохраняется тенденция к дальнейшему снижению диаметра дефекта, вплоть до его полного исчезновения (достижения полной эпителизации).

В результате проведенного регрессионного и дисперсионного анализа полученных результатов, удалось установить показатели среднего доверительного интервала при $p=0,95$. Так, если до процедуры размер дефекта прямой кишки находился в пределах от 0,4 до 4 см, то спустя три месяца размер дефекта стал находиться в пределах от 0,1 до 1,5 см. Спустя 6 месяцев после процедуры размер дефекта стал находиться в интервале от 0 до 1,8 см, то есть, спустя 6 месяцев у многих пациенток уже отмечались случаи полной эпителизации дефекта прямой кишки.

Таким образом, анализ результатов лечения постлучевых повреждений прямой кишки, позволяет нам сделать вывод об эффективности проведенного лечения и отметить положительную динамику у всех пациенток. Тенденция к снижению размеров дефекта, достижение полной эпителизации дефекта и отсутствие рецидивов позволяет сделать вывод об эффективности проведенного лечения и возможности применения аутологичной жировой ткани для лечения постлучевых повреждений прямой кишки.

Далее нами была проведена оценка показателей эпителизации постлучевых повреждений прямой кишки в зависимости от типа развившегося осложнения. Рассматривали отдельно показатели эпителизации постлучевых ректовагинальных свищей, и постлучевых язв.

Перед закрытием стомы, показатели эластометрии максимально приближены к показателям нормы. В целом, отмечается тенденция к стабилизации результата, и даже незначительному повышению показателей эластометрии, что может указывать на постепенное восстановление организма. Перед закрытием стомы можно отметить снижение показателей эластометрии до средних значений 20-30 кПа.

По сравнению с исходными данными, полученными до проведения процедуры, показатели также существенно улучшились. Отмечается снижение показателей от 90-100 кПа до начала лечения, до 20-30 кПа на момент закрытия стомы. По сравнению с данными, полученными до проведения процедуры, и данными полученными перед закрытием стомы, показатели улучшились в 5 раз. Анализ тренда показывает тенденцию к незначительному дальнейшему повышению показателей эластометрии и вероятной их стабилизации в достигнутых пределах. На данном этапе можно сделать вывод об эффективности лечения с использованием аутологичной жировой ткани.

Процесс заживления оценивали клиническими и гистологическими методами. Клиническая картина включала постепенное уменьшение размера свища, уменьшение воспаления и восстановление слизистой оболочки влагалища и прямой кишки (рисунок 5). В промежуточной стадии дефект обычно заполнялся грануляционной тканью. Остаточное отверстие закрывалось самопроизвольно. Новообразованная рубцовая ткань прошла стадии пролиферации и ремоделирования, сопровождающиеся эпителизацией.

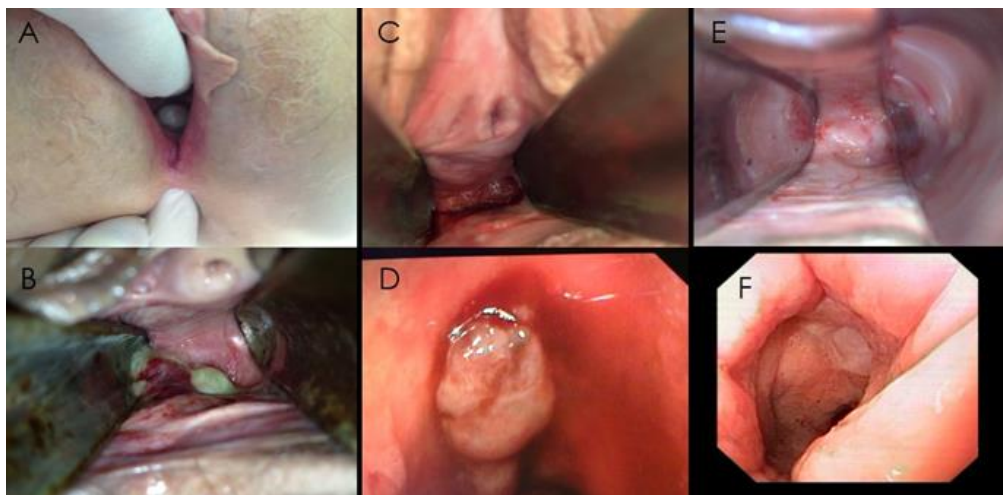


Рисунок 5. Клиническая картина: А - свищ шириной 2 сантиметра; Б - Уменьшение диаметра свища до 0,5 см через 12 недель после процедуры; С - 24 недели после операции, до полного заживления (утечки из прямой кишки во влагалище не наблюдается); D - 24 недели после процедуры до полного заживления, эндоскопический вид (дефект заполнен грануляционной тканью); Е - 48 недель после процедуры, полное заживление (хорошее качество слизистой оболочки влагалища); F - 48 недель после процедуры, полное заживление, эндоскопический вид (нормальная слизистая прямой кишки, минимальное рубцевание на месте свища).

Далее нами была проведена оценка качества жизни пациенток с постлучевыми повреждениями после проведенного лечения. Оценку качества жизни проводили спустя 3 месяца, 6 месяцев и 12 месяцев после проведенного лечения. Показатели качества жизни пациенток после проведенного лечения существенно улучшились. Отмечается дальнейшая тенденция к улучшению качества жизни по всем основным показателям. Так, существенно возрос уровень общей удовлетворенности жизнью. Спустя 3 месяца после проведенного лечения пациентки оценивали удовлетворенность жизни в среднем в 69 ± 11 баллов. При этом минимальный показатель составлял 50 баллов, максимальный – 90 баллов. Спустя 6 месяцев средние показатели удовлетворенности жизнью составили 77 ± 12 , спустя 12 месяцев после лечения удовлетворенность жизнью возросла до 82 ± 15 , при этом максимальный показатель в выборке составил 100 баллов.

Соответственно, существенно повысился уровень социальной активности пациенток – от $67,9 \pm 14,4$ баллов спустя 3 месяца после начала лечения до $95,3 \pm 7,7$ баллов спустя 12 месяцев после начала лечения. При этом спустя 12 месяцев после начала лечения максимальный показатель в выборке составил 100 баллов.

Отмечается улучшение эмоционального состояния пациенток от $60,4 \pm 34,8$ баллов спустя 3 месяца после начала лечения до $87,5 \pm 34,1$ баллов спустя 12 месяцев после начала лечения. Ментальное самочувствие также улучшилось с $61,8 \pm 11,5$ баллов через 3 месяца после начала лечения до $79,5 \pm 17,5$ баллов через 12 месяцев после начала лечения.

Отмечается улучшение репродуктивного здоровья от $61,2 \pm 9,8$ баллов спустя 3 месяца после начала лечения до $66,7 \pm 12,7$ баллов спустя 12 месяцев после начала лечения. На снижение болевых ощущений указывает $68,5 \pm 14\%$ пациенток спустя 3 месяца после лечения и $97,8 \pm 9\%$ пациенток спустя 12 месяцев после проведенного лечения. Общее физическое состояние пациентки оценивали в среднем в 63 ± 20 баллов спустя 3 месяца после начала лечения и в $91 \pm 7,4$ балла спустя 12 месяцев после проведенного лечения.

Таким образом, наблюдается тенденция к повышению качества жизни пациенток после проведенного лечения. Нами был проведен сравнительный анализ качества жизни пациенток до начала лечения и спустя год после проведенного лечения. Результаты указывают на существенный рост качества жизни пациенток после лечения.

Качество жизни пациенток спустя год после проведенного лечения существенно возросло. При этом улучшение отмечается по всем исследуемым показателям. При этом наиболее выраженные изменения произошли по таким шкалам, как снижение болевых ощущений, улучшение физического состояния в целом. Также существенно возрос уровень социальной активности пациенток. Показатель общей удовлетворенности жизнью возрос с 38 баллов до проведения лечения до 82 баллов после лечения. Также существенно улучшилось эмоциональное состояние

пациенток. Если до начала лечения пациентки оценивали свое эмоциональное состояние в 12,5 баллов, то спустя год после лечения эти показатели возросли до 87,5 баллов.

Интересно, что у всех пациентов постепенное улучшение качества жизни и местного статуса наблюдалось уже в первые сутки после операции и постепенно улучшалось в течение 48 недель после операции.

Изменения каждой шкалы опросника были значительными. Наиболее важные улучшения были зарегистрированы в отношении физического функционирования (46-90), полового физического функционирования (0-100), телесной боли (35-100), социального функционирования (25-100) и эмоциональных (0-100) шкал.

В совокупности эти параметры указывают на значительное улучшение физического, психологического и эмоционального статуса пациента, что привело к полному восстановлению физической и социальной активности.

Интересно, что 10 из 16 пациентов, у которых до лечения была сильная боль ($AD = 21,3 \pm 12,0$ (среднее \pm стандартное отклонение)), отметили значительное улучшение уже через 12 недель ($AD = 61,2 \pm 6,1$ (среднее \pm стандартное отклонение)) и полное отсутствие боли через 48 недель.

Кроме того, в большинстве случаев боль резко уменьшилась уже в первые дни после оперативного вмешательства. Качество жизни постепенно улучшалось по мере уменьшения размера свищей и выздоровления. Все местные симптомы, измеренные с помощью EORTC QLQ PRT23, постепенно исчезали в течение 48-недельного периода.

Ректальное кровотечение наблюдалось у 12 пациентов. Артериальная кровь не обнаруживалась в стуле через 12 месяцев после лечения, в то время как небольшие темные сгустки крови все еще присутствовали через 12, 24 и 48 недель у 6, 4 и 1 пациента соответственно.

В большинстве случаев требовался всего один день в стационаре, чтобы пациенты вернулись к своей предоперационной деятельности на следующий день после процедуры. Быстрое послеоперационное

восстановление и отсутствие значительных осложнений в донорских и реципиентных зонах являются дополнительным преимуществом описания техники по сравнению с традиционными операциями.

Таким образом, результаты позволяют сделать вывод о том, что разработанный нами метод лечения постлучевых повреждений прямой кишки позволяет существенно повысить качество жизни пациенток и улучшить результаты лечения.

Сравнительные результаты исследования эффективности лечения с использованием метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей и хирургического лечения

Для сравнительной оценки эффективности применяемого нами метода инъекционной аутотрансплантации жировой ткани и традиционного хирургического лечения, нами было проведено сравнительное исследование результатов, полученных в контрольной и экспериментальной группах. Участники контрольной группы получали лечение с использованием хирургических методов лечения, участники экспериментальной группы получали лечение с использованием метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей. В контрольную группу составили 33 пациентки в возрасте от 36 до 73 лет (54 ± 10) с диагнозом рецидивный постлучевой ректовагинальный свищ. В результате анализа анамнестических данных, было установлено, что до момента исследования всем больным, ранее было выполнено от 1 до 6 оперативных вмешательств (медиана $(25-75)=1.0(1.0-2.0)$ в стандартном объеме. У 17 пациентов хирургическое вмешательство выполнялась однократно, у пяти – дважды, по одному пациенту – пяти и шестикратно.

В группе контроля производился ретроспективный анализ результатов лечения с учетом последней операции (иссечение стенки и ушивание свища в 13 случаях, устранение дефекта с использованием местных тканей в 20 случаях). В основной группе производился проспективный анализ результатов лечения пациентов группы контроля методом инъекционной

аутотрансплантации жировой ткани в комбинации со стромально-васкулярной фракцией (СВФ).

Полученные данные обрабатывались в программе SPSS 21.0. Симметричность выборки определялась при помощи теста Шапиро-Уилка (p менее 0,05 – выборка асимметричная). Количественные признаки с нормальным распределением описывались средним и стандартным отклонением, с асимметричным распределением – медианой и квартилями (25-ый и 75-ый). Для вычисления значения p при сравнении групп по осложнениям и использовался критерий хи-квадрат Пирсона.

У всех пациентов, включенных в исследование, отмечалось развитие рецидива постлучевого ректовагинального свища после проведенного стандартного хирургического лечения в срок от 3 до 84 дней (медиана (25-75)=21(11-28)).

Изначальные размеры свища перед включением в группу контроля составили от 4 до 40 мм (медиана (25-75)=12.0(7.3-20.0)).

Затем нами были проанализированы результаты лечения на предмет развития осложнений в обеих группах. У всех пациентов основной группы лечение прошло успешно, без развития рецидивов. Осложнения развились только у 1 человека (3,3%) в виде нагноения операционной раны. Однако осложнение удалось довольно легко купировать при помощи стандартной антибиотикотерапии. У всех остальных пациентов (96,7%), лечение прошло без осложнений. Отмечено полное заживление дефекта ректовагинальной перегородки в срок от 3 до 12 месяцев, у большинства пациентов - после одной или двух процедур. В ряде случаев выполнялись дополнительные этапы (до четырех) с целью увеличения толщины ректовагинальной перегородки, улучшения эластических свойств вновь образованной рубцовой ткани (менее 40 кПа).

Что касается контрольной группы, рецидивы отмечаются у всех 100% пациентов. При этом без осложнений лечение прошло только у 20,8%

пациентов. У остальных пациентов наблюдались различные послеоперационные осложнения.

В контрольной группе, помимо рецидива свища, другие хирургические осложнения развились у 24 пациентов (79,2%):

- обструктивная дефекация (n=7) – 23,1%;
- резистентные к лечению воспалительные инфильтраты (n=3) – 9,9 %;
- дизурические расстройства (n=3) – 9,9 %;
- нагноение послеоперационной раны (n=2) – 6,6 %;
- острый парапроктит (n=1) – 3,3 %;
- тромбоз геморроидальных узлов/острый геморрой (n=1) – 6,6 %;
- диспаренурия (n=6) – 19,8 %.

В 3 (9,9 %) из 33 случаев с целью разрешения возникших осложнений потребовались дополнительные операции (2 – обструктивная дефекация, 1 – воспалительный инфильтрат). В основной группе наблюдался один случай (3,3%) послеоперационной инфекции в зоне забора жировой ткани (внутренняя поверхность бедра), которая разрешилась консервативно. Разница в частоте развития осложнений между группами была статистически значимой ($p=0,0001$).

Анализ безопасности сравниваемых подходов также показал превосходство исследуемого способа над традиционными хирургическими методиками. Частота хирургических осложнений была существенно выше в контрольной группе (79,2%) по сравнению с исследуемой (3,3%) при высокой статистической значимости полученных данных ($p=0,0001$). Риск развития осложнений в контрольной группе, где применялись традиционные хирургические техники, довольно высок и составляет 79,2%. Более того, в 9,9 % случаев осложнения, развившиеся после применения стандартных хирургических методов, потребовали дополнительного хирургического вмешательства.

**Оценка отдаленных результатов и обоснование эффективности
метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей на основе
клинических, биохимических, иммунологических показателей**

После проведенного лечения, нами было отмечено снижение активности моноцитов и макрофагов, а также выраженное снижение уровня провоспалительных цитокинов. В первую очередь, обращает на себя внимание достоверно значимое снижение уровня ИЛ-1, ФНО. Также отмечается незначительное повышение экспрессии АГ-представляющих молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) II класса на моноцитах и макрофагах). Это позволяет нам сделать вывод об эффективности проводимого лечения, а также о том, что в долгосрочной перспективе лечение также окажется эффективным, вероятность развития рецидивов минимальна. Это обусловлено тем, что СВФ, вводимая в зону поражения, способствует не просто заживлению раны, но и восстановлению иммунных реакций, повышению репаративных возможностей организма. Соответственно, дефект имеет тенденцию к заживлению.

При помощи клеточных компонентов, входящих в состав СВФ, удалось устранить признаки лимфопении. После проведенного лечения нами было отмечено повышение выработки цитокинов и существенное повышение активности НК-клеток, отмечалась активация хемотаксиса и фагоцитоза. Это благоприятно сказывается на способности к заживлению дефекта, поскольку повышает защитные механизмы и регенерационные возможности поврежденных тканей.

После проведенного лечения отмечается некоторое повышение активности Т-лимфоцитов, а также происходит активация синтеза антител и активности нейтрофилов, нормализуется функция рецепторов к Fc-фрагменту IgG. Все это говорит о положительной динамике, а также о восстановлении регенераторных возможностей организма.

Введение клеточных компонентов жировой ткани, находящихся в составе СВФ, способствовало снижению уровня эндогенных

глюкокортикоидов. У пациентов отмечалось умеренное усиление клеточного деления, что способствовало активной регенерации поврежденных тканей. Также существенно снизился апоптоз в клетках иммунной системы. Отмечалось повышение уровня лимфоцитов, циркулирующих в кровотоке. Все это говорит о положительной динамике в заживлении дефекта, а также в восстановлении репарационных возможностей организма, соответственно, можно ожидать положительных отдаленных результатов лечения.

После проведенного лечения с использованием СВФ, нами было отмечено достоверно значимое снижение уровня иммуноглобулинов класса IgM, IgG, IgA и снижение продукции IL-10, повышение T - клеточного иммунитета и функций макрофагов. Это говорит об устранении хронического воспалительного процесса, а также о тенденции к нормализации иммунной системы. Отмечается нормализация оксидативного статуса, снижение продуктов перекисного окисления липидов, повышение активности антиоксидантных систем крови (глутатионпероксидаза, восстановленный глутатион, каталаза). Также практически не наблюдались местные проявления хронического воспаления.

После проведенного лечения с использованием СВФ, нами было отмечено снижение количества лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови при снижении вязкости крови и уровня фибриногена. Одновременно наблюдается снижение СОЭ, снижение средней концентрации уровня гемоглобина и плазминогена, отмечена тенденция к нормализации щелочного резерва крови. Показатель гематокрита незначительно снижается, так же как уровень гемоглобина и содержание гемоглобина в одном эритроците. Все это говорит об устранении хронического воспаления, о нормализации регенераторных возможностей тканей, нормализации иммунитета. В периферической крови отмечается снижение числа эозинофилов и лимфоцитов при одновременном повышении сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов. Были выявлены миелоциты и юные лейкоциты, что говорит об активной регенерации в

организме. Эти данные также подтверждают отсутствие обострения хронического воспалительного процесса.

После проведенного лечения с использованием СВФ, отмечено достоверное снижение в крови общего белка, амилазы, холестерина и повышение уровня альбумина, креатинина, а также активности креатинкиназы. Отмечалась нормализация уровня глобулинов в крови, в частности, отмечалась нормализация уровня всех групп глобулинов, особенно группы б1 и г, что говорит о нормализации функции иммунной системы, нормализации репарационных процессов.

После проведенного лечения с использованием СВФ, нормализуются показатели фагоцитоза: достоверно снижается фагоцитарное число и фагоцитарный индекс. Одновременно с этим отмечено достоверное повышение показателя завершенности фагоцитоза, фагоцитарного показателя. После проведенного лечения снижалось содержание ЦИК, В - лимфоцитов, в-лизинов, уровень лизоцима, а также активность комплемента. Уровень Т-супрессоров достоверно повышался, в то время как количество Т-хелперов достоверно снижалось. При изучении НСТ-теста (спонтанного и стимулированного) отмечено их достоверное снижение. Существенно снижался лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), отмечалась нормализация ядерного индекса (ЯИ), нормализовалось соотношение нейтрофилы/лимфоциты (Н/Л), показатель повреждения нейтрофилов (ППН) у больных также умеренно снижался и приближался к показателям нормы.

Приведенные данные характеризуют нормализацию иммунитета. Отмечается нормализация состояния антиоксидантной системы защиты и

После проведенного лечения отмечается достоверное снижение содержания CD-3 и CD-79 лимфоцитов, расположенных диффузно в ткани (по сравнению с показателями, которые отмечались до начала лечения). Отмечается нормализация количества CD-3 лимфоцитов. Очагового скопления CD-3 в тканях не отмечалось, что говорит об отсутствии активного воспалительного процесса.

После проведенного лечения с использованием СВФ, нами была отмечена тенденция к нормализации уровня лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов в крови. Постепенно удалось устранить симптомы анемии, тромбоцитопении, лейкоцитопении, снижалась выраженность гематологической токсичности, что позволяет судить о положительном воздействии СВФ не только на локальный очаг воспаления, но и на системное воздействие клеточных компонентов на организм.

После проведенного лечения, отмечается тенденция к нормализации уровня провоспалительных цитокинов (ФНОб, ИЛ-1в, ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-18, ИЛ-2 и ИНФб и нормализация уровня ИЛ-10 при повышении уровня ИЛ-4 и РАИЛ). Отмечается нормализация активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови (в частности, отмечается нормализация фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа), нормализуется концентрация С3, С3а, С4, С5, С5а и регуляторов – фактора Н и С1-инг.

К моменту выписки из стационара после проведенного лечения нормализуется фагоцитарный индекс, частично фагоцитарное число и кислородзависимая активность нейтрофилов периферической крови, концентрация С3-компонента комплемента и С1-инг.

При использовании корреляционного, факторного и кластерного методов анализа взаимосвязей между изученными показателями иммунного статуса у пациентов с постлучевыми повреждениями прямой кишки, наибольшее количество связей было установлено для концентрации ФНОб, ИЛ-10, С4-компонента системы комплемента и С1-ингибитора. У некоторых пациентов выявлено существенное повышение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и TNF-б на фоне явного дефицита противовоспалительного компонента (ИЛ-10) и широкой вариабельности значений ИЛ-4. Состояние сопровождалось снижением ($p < 0,05$) общего количества Т-лимфоцитов (CD3+) при некотором возрастании относительного количества Т-хелперов (CD4+) и снижении числа Т-супрессоров (CD8+) по сравнению с показателями нормы.

Существенных сдвигов в содержании В-лимфоцитов не отмечали. Изменения ряда иммунологических показателей в группе пациентов с постлучевыми повреждениями прямой кишки коррелировали с уровнем биохимических маркеров репарации поврежденной ткани. После проведенного лечения с использованием СВФ, отмечается тенденция к нормализации основных биохимических, иммунологических показателей. Все это способствует восстановлению репарационных возможностей организма, а соответственно, можем говорить о возможности заживления дефекта без последующего развития рецидивов. Что касается лечения с использованием традиционных (хирургических) методов лечения, достоверного изменения биохимических, иммунологических показателей не отмечалось, что позволяет говорить о том, что в долгосрочной перспективе данные методы обладают недостаточной эффективностью, и ассоциированы с высоким риском развития послеоперационных осложнений и рецидивов.

Таким образом, нарушение репарации поврежденной ткани у пациентов с постлучевыми повреждениями прямой кишки сопровождается изменениями показателей Т-клеточного звена иммунитета и дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов, что приводит к снижению репарационных возможностей, длительному незаживлению дефекта, прогрессированию заболевания. Выявленные изменения в клеточном иммунитете и цитокиновом профиле носят взаимно усугубляющий характер. При этом применение СВФ позволяет нормализовать указанные показатели, а соответственно, позволяет достичь устойчивых результатов в лечении, снизить риск развития осложнений, предотвратить вероятность возникновения рецидивов. Повышение CD45RA-позитивных клеток может служить критерием вероятности развития аллергической реакции. Идентификация иммунокомпроментированных пациентов еще до проведения операции может снизить частоту послеоперационных осложнений, связанных с усилением течения соматической патологии, а также определить тактику персонализированного подхода к дальнейшей реабилитации.

**Характеристика стромально-васкулярной фракции (СВФ),
используемой для проведения процедуры с использованием метода
микроинъекционной аутотрансплантации тканей**

Рассмотрим результаты исследования объема и основных характеристик жировой ткани (таблица 4).

Таблица 4. - Характеристика используемой стромально-васкулярной фракции

	Среднее значение	Минимальное значение	Максимальное значение
Возраст пациенток	54	39	72
V жира общий	47	15	67
V на центрифугирование	50		
V центрифугирования на процедуру	31,8	35	41
V после центрифугирования процедура	26,4	30	34
% масла после центрифугирования	14,61	12,82	21,95
V центрифугирования на исследование	15	15	15
V после центрифугирования на опыт	10	10	10
V масла на процедуру	2,75	2	3
V масла после переваривания	14,25	16	21
V после отстаивания 60 мин	40,85	21	55
ресуспенд на процедуру	5,74	1,3	6,8

V ресусп комби	3,57	1	7
V на исследование комби	1	1	1
V ресусп ручн	5,87	1,5	7
V для клеточности	2	2	2
Клеточность (ручной метод)	3829870	544000	8800000
Клеточность (комбинированный метод)	713749	4740	53200
Жизнеспособность (ручной метод), %	83,47	61,9	99,2
Жизнеспособность (комбин метод),%	67	68	94,4

Средний возраст доноров жировой ткани составляет $53,88 \pm 10,42$ года при индексе массы тела $28 \pm 4,7$. Жизнеспособность клеток составляет $81,953 \pm 6,7206$, общая клеточность составляет $449208,47 \pm 230501,987$, показатели клеточной жизнеспособности составляют $391967,56 \pm 212095,864$. Далее нами был проведен анализ жизнеспособности полученной ткани в зависимости от донорской зоны.

Максимальные показатели жизнеспособности клеток наблюдаются при использовании жировой ткани, полученной из спины ($83,667 \pm 5,9$), живота ($82 \pm 6,3$) и фланков ($83,667 \pm 5,9$). Минимальные показатели жизнеспособности ткани наблюдаются при заборе из наружной поверхности бедер (79 ± 11). В целом, показатели существенно не отличаются, средний показатель жизнеспособности ткани составляет $81,953 \pm 6,72$.

Проведенный однофакторный дисперсионный анализ позволяет заключить, что статистически значимых различий жизнеспособности в зависимости от донорской зоны получено не было ($p=0,901$).

Далее нами были проанализированы основные показатели жизнеспособности, общей клеточности и клеточной жизнеспособности в

зависимости от возраста донора жировой ткани. Как видим, в возрасте до 40 лет показатели жизнеспособности составляют $82,950 \pm 6,49$; в возрасте 40-60 лет показатели жизнеспособности клеток составляют $82,660 \pm 6,77$; в возрасте старше 60 лет эти показатели составляют в среднем $78,020 \pm 7,18$. Средние показатели составляют $81,953 \pm 6,72$. Данные существенно не отличаются. Статистически значимых различий жизнеспособности в зависимости от возраста получено не было ($p=0,374$).

Статистически значимых различий клеточности в зависимости от возраста получено не было ($p=0,402$). Данные представлены в таблице 5.6. Статистически значимых различий жизнеспособности клеток в зависимости от возраста получено не было ($p=0,775$).

Таким образом, анализ полученной СВФ, позволяет заключить, что характеристики используемой аутологичной регенеративной жировой ткани не зависят ни от способа получения, ни от донорской зоны, ни от возраста донора. Статистически значимых различий жизнеспособности, клеточности и общей клеточной жизнеспособности в зависимости от возраста, донорской зоны получено не было ($p=0,374$). Образцы СВФ были охарактеризованы с помощью проточной цитометрии для экспрессии основных мезенхимальных поверхностных маркеров: CD105 89,3-94,8% (медиана (25-75) = 91,1 (90,6-91,4), CD73 92,0-96,3% (медиана (25-75) = 94,8 (94,2-95,1), CD90 82,8-96,2% (медиана (25-75) = 87,4 (86,4-90,6), панлейкоцитарный антиген CD45 был отрицательным во всех пробах, CD34 регистрировался в небольшой части клеток с уровнем экспрессии не более 1 %. Всем пациентам была выполнена только одна процедура согласно протоколу исследования.

Анализ основных морфологических и гистологических изменений, происходящих в тканях после проведения лечения методом микроинъекционной ауотрасплантации жировой ткани

Нами было проведено детальное исследование морфологических и гистологических изменений, происходящих в тканях пациенток после проведенного лечения с использованием СВФ в динамике. Исследование

проводилось методом иммуногистохимии. Полученные гистологические срезы сравнивали с клинической картиной патологии. Полученные данные позволяют сформулировать этапность и основные закономерности развития ткани. В типичной картине фиброзно-язвенного дефекта наблюдается выраженная круглоклеточная инфильтрация дна дефекта с фиброзными изменениями. Отчетливо прослеживаются лимфоциты, макрофаги. Ткань содержит единичные артериолы с явлениями продуктивного артериолита (воспаленные микрососуды с нарушенной функцией). Также присутствуют признаки некротического воспаления.

Данная гистологическая структура соответствует клинической картине постлучевой язвы.

На промежуточной фазе, спустя 1-3 месяца после липографтинга, происходит формирование грануляционной ткани.

На промежуточной стадии плотность сосудов увеличивается. Наблюдается полиморфно-клеточный элемент инфильтрата с примесью фибробластов, появляется тропоколлаген. Также в ткани появляются многоядерные макрофаги, что указывает на очищение тканей от остатков нежизнеспособных тканей. На данном этапе начинается формирование тканевой структуры, близкой к предшествующей. Спустя 4-9 месяцев после начала формирования первых грануляций формируется тканевая архитектура, близкая к нормальной тканевой структуре. На данном этапе прослеживаются коллагеновые волокна, множественные сосуды. Появляется малая клеточность. Спустя 9-12 месяцев появляется зрелая жировая ткань, многочисленные микрососуды, малая клеточность.

Выводы

1. В структуре постлучевых осложнений наиболее часто встречаются ректовагинальные свищи (62,4%), на втором месте - постлучевая язва прямой кишки (23,4%), на третьем – лучевой проктит (11,2%). Средний возраст пациенток, составляет 54 ± 10 лет.

2. Временной интервал от момента окончания лучевой терапии до появления первых признаков лучевого повреждения прямой кишки колеблется от 3 до 48 месяцев, причём в 34,5% суммарная доза лучевой терапии не превышала толерантных значений для слизистой оболочки прямой кишки (60-70Гр), а у 65,5% пациентов доза лучевой терапии была выше и составляла 70-80 Гр. Последнее явилось значимым фактором риска развития постлучевых осложнений.

3. Регенеративный процесс при постлучевых осложнениях имеет свои закономерности и во многом зависит от характера осложнений. При постлучевых язвах эпителизация повреждений завершается в течении первых 6 месяцев (в 77,5% случаев), а при ректовагинальных свищах через 12 месяцев (в 63%).

4. Исследование липоасpirата, используемого для выполнения липографтинга показало, что стромально-васкулярная фракция жировой ткани содержит популяцию стромальных клеток, характеризующихся свойствами мезенхимальных стромальных клеток, в частности, способностью к мультилинейной дифференцировке. В эксперименте нами показано быстрое замещение просвета свища фиброзной тканью с редукцией воспалительного процесса в следствии дифференциации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в клеточные элементы соединительной ткани, продукцией биологически активных факторов, стимулирующих регенерацию и формирование внеклеточного матрикса.

5. Гистологические исследования позволили отслеживать закономерности регенеративного процесса при использовании липоасpirата от круглоклеточной инфильтрации зон постлучевого поражения до развития полиморфно-клеточных клеток с появлением фибробластов, тропоколлагена в промежуточной стадии и завершением формирования тканей, близких по структуре к нормальной, представленной коллагеновыми волокнами, множественными сосудами, здоровой жировой тканью.

6. Одним из достоверных методов контроля эффективности лечения с использованием аутологичной жировой ткани является эластометрия, при которой выявлены изменения ее количественных параметров от 90-100 кПа до начала терапии, со снижением до 55-70 кПа через 3 месяца и до 20-30 кПа к завершению лечения. Сроки закрытия (протективных) колостом определялись на основании клинических, эндоскопических, гистологических данных, а также по результатам показателей эластометрии и последние, в среднем находились на уровне 20-30 кПа.

7. Показаниями проведению липографтинга с применением липоаспирата явились постлучевые язвы и свищи со склонностью к рецидивирующему течению. Диагноз должен быть установлен не ранее 6 месяцев после прохождения последнего курса лучевой терапии.

8. Сроки закрытия протективных колостом определялись на основании клинических, эндоскопических, биохимических, иммунологических и гистологических данных, а также по показателям эластометрии и в последнем, в среднем находились на уровне 20-30 кПа.

9. Разработанная методика лечения пациентов с постлучевыми осложнениями была эффективной в 100% случаях, полная эпителизация постлучевых язв была достигнута у 100% пациентов, закрытие постлучевых свищей наблюдалось в 100% случаев.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И НАУЧНЫХ ВЫВОДОВ

По результатам исследования, нами были сформулированы практические рекомендации по применению полученных результатов и научных выводов:

1. Для достижения результатов, необходимо тщательно анализировать анамнез пациентов, а также учитывать показания к проведению процедуры:

- Диагноз постлучевой ректовагинальный свищ, лучевой проктит, лучевая язва, установленный не ранее 6 месяцев после прохождения последнего курса лучевой терапии.

- Длительное, рецидивирующее течение постлучевых осложнений прямой кишки, отсутствие рецидива основного заболевания (полный ответ, регрессия опухоли) за все время наблюдения.

- Отсутствие злокачественных новообразований прямой кишки, анального канала.

2. При наличии противопоказаний процедура не может быть проведена, либо требует отсрочки. Противопоказания к проведению процедуры:

- У пациентки имеются противопоказания для местной анестезии или указания в анамнезе на аллергические реакции на местные анестетики.

- Объемные травматические поражения различной этиологии в анамнезе.

- Наличие патологии, способной препятствовать проведению обследований и процедур.

- Наличие хронических патологий внутренних органов в субкомпенсированных или декомпенсированных формах.

- Клинически значимые отклонения в результатах лабораторных анализов.

- Состояния, ограничивающие приверженность к выполнению процедуры (деменция, психоневрологические заболевания, наркомания, алкоголизм и т.д.).

- Пациенты со злокачественными опухолями, включая послеоперационный период на фоне химио- и/или лучевой терапии.

- Пациенты, у которых уровень АЧТВ превышает нормальные показатели в 1,8 раза.

- Пациенты, получающие в связи с каким-либо заболеванием антикоагулянты, а также те, которые получали антикоагулянты как минимум

в течение 1 часа перед липоаспирацией.

- Пациенты с указанием в анамнезе на гетеротопические оссификации.
- Пациенты, которые получают или получали перед процедурой ингибиторы гликопротеина IIb/IIIa.
- Острая сосудистая патология.
- Возрастная макулярная дегенерация (отечная или атрофическая форма).

3. Все пациенты должны проходить послеоперационное наблюдение в течении как минимум 1 года. Особое внимание необходимо уделять пациенткам с постлучевыми язвами.

У пациенток с постлучевыми язвами, отмечается тенденция к вероятному дальнейшему увеличению показателей до размера дефекта от 0 до 0,2 см. Это указывает на необходимость дальнейшего наблюдения за пациентками, чтобы своевременно выявить возможный рецидив и принять необходимые меры. Возможно, пациентками потребуются повторное контрольное введение аутологичной жировой ткани для закрепления ожидаемого результата.

4. После проведения процедуры, пациентки нуждаются в контроле с использованием клинических, эндоскопических, гистологических, иммунологических, биохимических методов.

Гистологические исследования позволяют отслеживать закономерности регенеративного процесса при использовании липоаспирата от круглоклеточной инфильтрации зон постлучевого поражения до развития полиморфно-клеточных клеток с появлением фибробластов, тропоколлагена в промежуточной стадии и завершением формирования тканей, близких по структуре к нормальной, представленной коллагеновыми волокнами, множественными сосудами, здоровой жировой тканью.

5. Важно контролировать процесс заживления дефекта с использованием метода эластометрии. Также при помощи эластометрии определяют оптимальные сроки закрытия колостомы.

Одним из достоверных методов контроля эффективности лечения с использованием аутологичной жировой ткани является эластометрия, при которой выявлены изменения ее количественных параметров от 90-100 кПа до начала терапии, со снижением до 55-70 кПа через 3 месяца и до 20-30 кПа к завершению лечения. Сроки закрытия (протективных) колостом определялись на основании клинических, эндоскопических, гистологических данных, а также по результатам показателей эластометрии и последние, в среднем находились на уровне 20-30 кПа.

б. Для оценки долгосрочных результатов лечения, необходимо проведение иммунологических, биохимических исследований.

В частности, необходимо определение маркеров воспаления (провоспалительные / противовоспалительные цитокины, ФНО, ИЛ, интерфероны, С-реактивный белок, ПОЛ, ЦИК, иммуноглобулины). Также важно определение основных гематологических показателей крови, подробное исследование иммунного статуса, лейкоцитарной формулы). Исследование позволяет нам сделать вывод об эффективности проводимого лечения, а также о том, что в долгосрочной перспективе лечение также окажется эффективным, вероятность развития рецидивов минимальна. Это обусловлено тем, что СВФ, вводимая в зону поражения, способствует не просто заживлению раны, но и восстановлению иммунных реакций, повышению репаративных возможностей организма.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Патент № 2597320 Российская Федерация, МПК А61В 17/00 (2006.01), А61В 10/02 (2006.01). Способ лечения постлучевых ректовагинальных свищей : № 2015140799 : заявл. 24.09.2015 : опубл. 10.09.2016 / Васильев В.С., Терюшкова Ж.И., Маркина Т.Н. [и др.]. – 13 с.

2. Терюшкова, Ж.И. Клиническое наблюдение полного закрытия постлучевого ректовагинального свища методом микроинъекционной аутотрансплантации жировой ткани / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, Е.Л. Казачков, С.А. Васильев, И.А. Карпов, Н.Б. Шишменцев, Ю.С. Васильев, И.С. Васильев, Г.П. Димов, Т.Н. Маркина // Колопроктология. – 2016. - № 3 (57). – С. 70-76.
3. Васильев, В.С. Возможности клинического применения стромально-васкулярной фракции жировой ткани в пластической хирургии / В.С. Васильев, С.А. Васильев, И.А. Карпов, Г.П. Димов, Ж.И. Терюшкова, И.А. Громов, И.И. Еремин // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2017. - № 2. – С. 82-91.
4. Терюшкова, Ж.И. Лечение постлучевого коловагинального свища методом микроинъекционной аутотрансплантации жировой ткани / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин, Е.Л. Казачков, С.А. Васильев, Г.П. Димов, И.Л. Батурина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. – Т. 12, № 6 (12). – С. 96-100.
5. Васильев, В.С. Роль инъекционной аутотрансплантации жировой ткани в реконструктивной хирургии молочной железы / В.С. Васильев, С.А. Васильев, Ю.С. Васильев, И.С. Васильев, И.А. Карпов, Н.С. Дубровская, О.Н. Чернова, И.И. Еремин, Ж.И. Терюшкова, И.Б. Казанцев // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2018. – № 2. – С. 37-53.
6. Терюшкова, Ж.И. Исследование биоматериала из жировой ткани, используемого в лечении постлучевых повреждений прямой кишки / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин, С.А. Васильев, Г.П. Димов, П.Н. Попков, А.А. Стасюк // Медицинский вестник Башкортостана. – 2018. – Т. 13, № 3 (75). – С. 36-42.
7. Терюшкова, Ж.И. Лечение лучевых ректовагинальных свищей / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин, С.А. Васильев // Московский хирургический журнал. – 2019. - № 2 (66). – С. 53-56.

8. Терюшкова, Ж.И. Липографтинг и стромально-васкулярная фракция жировой ткани с постлучевыми ректовагинальными свищами / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин, С.А. Васильев, И.И. Еремин // Онкологическая колопроктология. – 2019. – № 1. – С. 34-41.
9. Гатиатулина, Е.Р. Стромально - васкулярная фракция жировой ткани: механизм действия, перспективы и риски местного применения / Е.Р. Гатиатулина, Н.Е. Мантурова, Г.П. Димов, В.С. Васильев, Ж.И. Терюшкова // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2019. - №2. – С. 43-48.
10. Патент 2686434 Российская Федерация, МПК А61В 17/00. Способ эндоскопического лечения внутренних дефектов желудочно-кишечного тракта : № 2018111149 : заявл. 28.03.2018 : опубл. 25.04.2019 / Васильев В.С., Терюшкова Ж.И., Ныжник Л.М. [и др.]. – 11с.
11. Терюшкова, Ж.И. Оценка основных характеристик стромально-васкулярной фракции и гистологических изменений регенерируемой ткани в процессе лечения постлучевых осложнений прямой кишки / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин, С.А. Васильев // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2020. – № 1. – С. 41-46.
12. Терюшкова, Ж.И. Стромально – васкулярная фракция и возможности ее применения в радиационной медицине колопроктологии / Ж.И. Терюшкова, А.В. Важенин, В.С. Васильев, С.А. Васильев, Г.П. Димов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2020. – Т.15, № 5 (89). – С. 91-97.
13. Васильев, В.С. Современные технологии регенеративной реабилитации в лечении пациентов с патологическими рубцовыми изменениями / В.С. Васильев, Н.Б. Корчажкина, А.А. Михайлова, И.И. Наделяева, С.А. Васильев, И.С. Васильев, Ю.С. Васильев, Ж.И. Терюшкова, И.Б. Казанцев, Е.С. Васильева, К.В. Котенко // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2021. – № 6-2. – С. 7-14.

14. Терюшкова, Ж.И. Оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения постлучевых повреждений прямой кишки / Ж.И. Терюшкова, // Амбулаторная хирургия. – 2021. – №1. – С. 82-90.
15. Терюшкова, Ж.И. Сравнительный анализ эффективности традиционного хирургического лечения постлучевых ректовагинальных свищей и лечения с использованием микроинъекционной аутотрансплантации тканей. / Ж.И. Терюшкова, // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. – 2021. - № 2. - С. 177-182. – (Серия «Познание»).
16. Vasilev, V.S. Biological features of adipose tissue / V.S. Vasilev, N.E. Manturova, S.A. Vasilev, Zh.I. Teryushkova // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. - 2019. - № 2. – С. 33-42.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЖК – аутологичные жировые клетки

АРС – аргоновая плазменная коагуляция

ВАШ – визуально-аналоговая шкала

ГОТ – гипербарическая кислородная терапия

ДМСО – диметилсульфоксид

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЛП – лучевые повреждения

ЛС – липосакция

ММСК - мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки

ММСК_{км} - мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга

МРТ – магнитно-резонансная томография

МСК_{жт} - мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

ПЛППК – постлучевые повреждения прямой кишки

РВС – ректовагинальный свищ

РИФ - радиационно-индуцированный фиброз

СВФ – стромально-васкулярная фракция

СВФ жт – стромально-васкулярная фракция жировой ткани

СОД – суммарная доза облучения

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ЦНС – центральная нервная система

ADRC - аутологичные регенеративные клетки жировой ткани (adipose-derived regenerative cells)

RTOG/EORS - радиотерапевтическая онкологическая группа совместно с Европейской организацией по исследованию и лечению рака