

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

На правах рукописи

ТЕРЮШКОВА ЖАННА ИВАНОВНА

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

3.1.9. Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

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

Тимербулатов Виль Мамилович

Уфа-2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Парадигма медико-радиологических постлучевых повреждений прямой кишки	12
1.1.1. Особенности этиологии и патогенеза проктитов. Тактика диагностики и лечения	22
1.1.2. Структура язв прямой кишки в парадигме лучевой терапии	25
1.1.3. Характеристика ректовагинальных свищей	30
1.2. Обзор традиционных методов лечения постлучевых повреждений прямой кишки	34
1.3. Анализ основных показателей стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани и возможности ее применения при лечении поздних лучевых повреждений прямой кишки	53
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	73
2.1. Организация (дизайн) исследования	73
2.2. Методы исследования	77
2.3. Характеристика лечебных мероприятий, проводимых пациенткам с постлучевыми повреждениями прямой кишки	79
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	84
3.1. Анализ анамнестических данных пациенток, получавших лечение по поводу постлучевых повреждений прямой кишки методом микроинъекционной аутотрансплантации тканей	84
3.2. Оценка показателей эпителизации постлучевых осложнений прямой кишки в процессе лечения методом микроинъекционной	93

аутоотрансплантации	
3.3. Сравнительные результаты исследования эффективности лечения с использованием метода микроинъекционной аутоотрансплантации тканей и хирургического лечения	123
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	131
4.1. Оценка отдаленных результатов и обоснование эффективности метода микроинъекционной аутоотрансплантации тканей на основе клинических, биохимических, иммунологических показателей	131
4.2. Характеристика стромально-васкулярной фракции (СВФ), используемой для проведения процедуры с использованием метода микроинъекционной аутоотрансплантации тканей	142
4.3. Анализ основных морфологических и гистологических изменений, происходящих в тканях после проведения лечения методом микроинъекционной аутоотрасплантации жировой ткани	153
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	166
ВЫВОДЫ	172
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	174
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	177
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	178
Приложение 1. Вопросник EORTC QLQ - PRT23	194

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Лучевые повреждения прямой кишки - поражения, вызванные воздействием ионизирующего излучения, возникающие как осложнение лучевой терапии злокачественных опухолей органов малого таза: простаты, шейки и тела матки, мочевого пузыря, прямой кишки. В.В. Пасов отмечает, что при лучевом воздействии поражается, как правило, прямая и сигмовидная кишка вследствие своего фиксированного положения в пределах таза и непосредственной близости к месту лучевого воздействия, а также возможно поражение петель тонкой кишки (лучевой энтерит) [59].

В исследованиях Л.А. Васильева показано, что хронические лучевые повреждения прямой кишки встречаются у 5-10% пациентов, как прогрессирование острого проктита, либо через 3 и более месяцев после проведенной ЛТ примерно у 9-55% больных, не имевших острых проявлений заболевания [75].

Лучевые повреждения связаны преимущественно с повреждением мелких сосудов подслизистого слоя кишечника, в которых возникают микротромбы, что сопровождается хронической ишемией (нарушением кровоснабжения и, как следствие, питания) слизистого и подслизистого слоя [59]. Э.Г. Семирджаянц указывает на то, что в результате нарушенного кровоснабжения постепенно развиваются атрофия слизистой оболочки, появляются эрозии и язвы, являющиеся причиной кишечных кровотечений. Дальнейшее прогрессирование заболевания может приводить к образованию некрозов (омертвлению слизистого и подслизистого слоя) и перфорации кишечной стенки, формированию межкишечных свищей и абсцессов. Поздние лучевые повреждения кишечника часто имеют упорное течение, слизистая кишки восстанавливается медленно [73].

И.В. Сычева показывает, что клиническая картина лучевых повреждений прямой кишки характеризуется наличием патологических примесей в кале (слизи, крови), нерегулярным стулом (возможны и запоры, и поносы), болевым синдромом (периодическим или постоянным) разной интенсивности и

локализации (внизу живота, в области промежности, в области ануса), усиливающимся при акте дефекации. Часто данные симптомы значительно снижают качество жизни пациентов. Из заболевших хроническим радиационным проктитом 9% пациентов, страдающих радиационным проктитом, в своих жалобах отмечают умеренное снижение качества жизни, до 55% пациентов отмечают значительную функциональную дисфункцию со стороны толстой и прямой кишки. Также пациенты могут предъявлять жалобы, связанные с осложнениями лучевого проктита (стриктура и рубцовая деформация кишки, свищи) [79, 80, 81].

Лечение постлучевых повреждений прямой кишки – сложная медицинская проблема. К настоящему времени стандартная терапия, клинические рекомендации по лечению ЛП не разработаны. Имеющиеся лечебные подходы основаны на опыте отдельных медицинских центров, клинических случаев и исследований с малой выборкой пациентов. Сложность лечения таких пациентов также связана с отсутствием некоторых эффективных препаратов на российском фармацевтическом рынке. Многочисленные исследования показывают, что терапия лучевых повреждений прямой кишки включает 3 основных подхода: медикаментозная терапия, эндоскопическое лечение, хирургическое лечение [61, 67, 80, 91, 109, 134].

Лечение лучевых повреждений начинают с консервативной (медикаментозной) терапии. Более инвазивные методы, такие как эндоскопические или хирургические вмешательства, применяют в более тяжелых или рефрактерных к медикаментозному лечению случаях [91].

Н.Ш. Эргашев показывает, что показаниями к оперативному лечению являются выраженные стенозы прямой кишки и ректосигмоидного отдела кишки, перфорации, свищи; рецидивирующие профузные кишечные кровотечения, неподдающиеся консервативной терапии. 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 [92].

Неудачи лечения обусловлены не только анатомо-функциональными особенностями зоны операции, но и несовершенством тактических принципов выбора способа операции.

В.А. Бурковская указывает на то, что любое хирургическое вмешательство в условиях пониженного иммунитета и нарушенных репаративных способностей организма, ассоциировано с высоким риском развития осложнений [12].

А.В. Визир указывает на то, что лучевые повреждения прямой кишки разнообразны. Наиболее часто встречающейся патологией являются лучевые язвы, проктиты, ректовагинальные свищи. 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 [17].

В различных исследованиях показано, что несмотря на большое количество оперативных вмешательств, число рецидивов и послеоперационных осложнений не имеет тенденции к снижению [17, 23, 75, 80, 93, 96, 121]. В связи с этим, актуальным является поиск новых методов лечения данной категории больных, основанных на современных достижениях регенеративной хирургии [28].

Степень изученности тематики исследования. К настоящему времени накоплен клинический опыт успешного использования микроинъекционной аутотрансплантации тканей (липографтинг, липофилинг) для лечения поздних лучевых повреждений мягких тканей различной локализации. Так, еще в 2001 году Р.А. Zuk [122] представил результаты комплексного исследования стромально-васкулярной фракции (СВФ), полученной из жировой ткани, а также описал возможности ее применения в регенеративной медицине и хирургии. В 2008 году К.Yoshimura [97], опубликовал результаты комплексного исследования трансплантата жировой суспензии, применяемой для лечения повреждений мягких тканей. Тем не менее, нами не было выявлено случаев использования аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения постлучевых

повреждения прямой кишки. Это и послужило обоснованием для нас к использованию этой методики для лечения постлучевых повреждений прямой кишки (ректовагинальные свищи, постлучевые язвы нижеампулярного отдела прямой кишки и постлучевые проктиты) [97].

Проблема исследования. 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. Мы полагали, что 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 [36, 39, 46, 47, 83].

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

Для реализации поставленной цели сформулированы такие *задачи:*

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 аутоотрансплантации 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 аутоотрансплантации тканей на основе СВФ жировой ткани в лечении постлучевых повреждений прямой кишки.

Объект исследования – пациентки после микроинъекционной аутоотрансплантации аутологичных регенеративных клеток жировой ткани.

Предмет исследования – возможности использования микроинъекционной аутоотрансплантации аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения постлучевых повреждений прямой кишки (лучевой проктит, лучевая язва, лучевой ректовагинальный свищ).

Научная новизна полученных результатов. Получен патент № 2 597 320 на лечение ПЛППК методом микроинъекционной аутоотрансплантации жировой ткани. Получен патент № 2 686 434 способ эндоскопического лечения внутренних дефектов желудочно-кишечного тракта. 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.

Практическое значение полученных результатов. 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.

Личный вклад соискателя. Диссертантом самостоятельно проведен патентно-информационный поиск, анализ литературных источников, сформулирована цель и задачи исследования, подобрана выборка и составлен план исследования. Диссертант самостоятельно изучил частоту встречаемости рака органов малого таза, существующие стандарты диагностики и лечения, выделил частоту встречаемости осложнения лучевой терапии. Диссертантом изучены особенности этиологии и патогенеза таких постлучевых повреждений прямой кишки, как постлучевой проктит, лучевые язвы, ректовагинальный свищ. Изучены существующие методы лечения указанных нозологий, выделены недостатки, обоснована необходимость применения альтернативных методов - микроинъекционной аутотрансплантации аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения постлучевых повреждений прямой кишки (лучевой проктит, лучевая язва, ректовагинальный свищ). Проведен комплексный анализ

анамнеза пациенток с поздними постлучевыми повреждениями прямой кишки, выделены показания и противопоказания к проведению процедуры. Разработана и апробирована методика микроинъекционной аутоотрансплантации аутологичных регенеративных клеток жировой ткани, оценена ее эффективность, ранние и отдаленные последствия. Разработаны рекомендации по применению микроинъекционной аутоотрансплантации аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения постлучевых повреждений прямой кишки. Самостоятельно проведена статистическая обработка результатов исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации, оформлена диссертация.

Структура работы. Диссертация 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.

Основные научные положения, выносимые на защиту:

1. Основными причинами развития п/лучев 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 аутологичных клеток их способностью к дифференциации.

3. Показаниями к микроинъекционной аутоотрансплантации 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 микроинъекцион аутотрансплантации 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 и в среднем пациенткам понадобилось 2-3 инъекции.

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

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Парадигма медико-радиологических постлучевых повреждений прямой кишки

Постлучевые повреждения прямой кишки – это повреждения прямой кишки, возникшие после перенесенной лучевой терапии по поводу основного заболевания. Поздние постлучевые повреждения прямой кишки (rectum) являются одними из наиболее распространенных осложнений лучевой терапии, проводимой по поводу лечения основного заболевания (рака шейки матки). Несмотря на постоянное совершенствование методов лучевой терапии, она не исключает вероятность возникновения лучевых осложнений на смежные органы. Так, примерно 10-15% случаев сопровождается развитием лучевых повреждений. Частота повреждений прямо пропорциональна суммарной очаговой дозе излучения – СОД [79].

В соответствии с данными радиотерапевтической онкологической группы совместно с Европейской организацией по исследованию и лечению рака (RTOG/EORS), возникновение лучевых повреждений – закономерное и ожидаемое следствие лучевой терапии. Важно следить за тем, чтобы частота возникновения лучевых повреждений не превышала допустимого порога – 5%. При этом не должно быть повреждений IV степени тяжести, вызывающих инвалидизацию или смерть пациента [63, 68].

На основе анализа и систематизации литературных источников и результатов клинических исследований, нами были выделены закономерности развития патологического процесса при лучевых повреждениях прямой кишки.

Стадии заболевания. Лучевые повреждения представляют собой поэтапные изменения в структуре и функциональном состоянии тканей, окружающих опухоль.

На начальных стадиях лучевых повреждений патологическим изменениям подвергается капиллярное русло кровеносной системы. Основные проявления – функциональные нарушения. Это могут быть различные болевые ощущения, стаз, спазм, судороги. Затем происходят изменения на морфологическом уровне. В результате существенно возрастает давление в окружающих тканях и капиллярах. Соответственно, происходит нарушение микроциркуляторных процессов. Часть крови минует капилляры, постепенно переходит из артериального колена в венозное. Происходит постепенное нарастание явлений гипоксии в тканях, в результате чего усиливаются склеротические процессы в тканях. Склеротические процессы, в свою очередь, влекут за собой нарастание гипоксии, что может привести к дальнейшему развитию фиброза [3].

На последующих стадиях, при лучевых повреждениях развивается радиационно-индуцированный фиброз (РИФ), выраженность которого зависит от СОД, способа фракционирования, метода лечения, схемы, количества источников облучения, времени, прошедшего после лучевой терапии. Развитие фиброза сопровождается пролиферативных процессов в эпителии. Также происходит выраженное уменьшение митозов, нарушаются процессы созревания эпителия. Слизистая оболочка прямой кишки становится более тонкой, развивается отек и гиперемия, обширная клеточная инфильтрация, развиваются воспалительные процессы. Возможно развитие абсцессов с выходом в кровяное русло нейтрофилов, эозинофилов, слущенных эпителиальных клеток. Дальнейшее уменьшение толщины слизистых оболочек приводит к развитию эрозий, изъязвлений, язв. При массивном облучении происходит активация фибробластов, гиалинизация соединительной ткани. Это приводит к формированию устойчивого фиброза, который зачастую приводит к выраженному сужению просвета кишки, к деструктивным нарушениям поверхностных слоев слизистой оболочки. В зависимости от дозы облучения, развиваются либо преходящие изменения слизистой оболочки, либо выраженный фиброз с дальнейшим развитием язв и воспалительного процесса.

Лучевой фиброз сопровождается выраженными изменениями в подслизистом слое смежных органов (мочевой пузырь, влагалище, прямая кишка). Формируется соединительнотканый каркас, приводящий к мощной фиксации кровеносных сосудов, что приводит к их слипанию. Клинические проявления – выраженная гематурия, профузные кровотечения. Развитие лучевого фиброза сопровождается выраженными признаками лучевого ректита и/или проктита. Кроме того, наблюдается общая слабость, дефицит массы тела (вплоть до 20-30 кг), неустойчивый стул с чередованием устойчивого запора с многократными поносами. Стул сопровождается выделением слизи и крови [52].

Лучевой фиброз зачастую сопровождается развитием воспалительного процесса, и перерастает в лучевой ректит. Бывают случаи, при которых патология носит латентный характер. При этом пациентки не предъявляют никаких жалоб. В некоторых случаях, ректиты подвергаются самостоятельному обратному развитию [136].

В целом, для острой фазы лучевого ректита свойственна гиперемия, отечность слизистой оболочки. На передней стенке прямой кишки отчетливо выражены телеангиэктазии. На стадии регрессии лучевого ректита наблюдается атрофия слизистой оболочки прямой кишки.

При морфологическом исследовании на начальной стадии наблюдаются явления лучевого эпителиита. Также наблюдаются воспалительно-некротические изменения мягких тканей. Постепенно происходит отек и набухание мягких тканей, в патологический процесс вовлекаются более глубокие слои. При легкой степени ректита наблюдается слущивание эндотелия. После этого происходит его постепенное восстановление. Тяжелая степень повреждения характеризуется некрозом тканей и отторжением отдельных участков слизистой оболочки. Остаются отдельные участки, лишенные эпителия, располагающиеся на инфильтрированных глублежащих тканях [129].

Важно то, что отсутствие жалоб не исключает вероятности развития лучевого ректита. Он может протекать бессимптомно [58]. Диагностика лучевого ректита требует постановки дифференциального диагноза. В первую очередь,

необходимо дифференцировать ректит и язвенный колит. Так, для лучевого ректита характерны более выраженные повреждения слизистой оболочки. Основная зона локализации повреждений при ректите – передняя стенка прямой кишки. При язвенном колите поражения симметричны [105].

Прогрессирование ректита приводит к появлению выраженных повреждений передней стенки кишки в виде воспалительной реакции (проктита) [99,114,125].

К числу поздних или вторичных лучевых повреждений, возникших после лучевой терапии, относят стриктуры и язвы, которые возникают в том случае, если в патологический процесс вовлекаются кровеносные сосуды. Развитие проктита приводит к развитию лучевых язв и эрозий, вплоть до истощения стенки и развития ректовагинального свища. Пациентам с признаками лучевых повреждений, крайне не рекомендуется проводить биопсию поврежденных тканей, поскольку это может стать причиной развития свища.

Классификация постлучевых повреждений прямой кишки. В зависимости от характера патологического процесса, выделяют катаральные, эрозивно-десквамативные, инфильтративно-язвенные и некротические повреждения. К числу наиболее тяжелых патологий следует отнести некротические и инфильтративно-язвенные процессы [71].

При эндоскопическом исследовании лучевых повреждений кишечника, можно выявить характерные изменения кровеносных сосудов. На ранних сроках довольно сильно выражена гиперемия слизистых оболочек, преобладают катаральные формы. С течением времени развивается ангиотелеэктазия, при которой происходит существенное расширение кровеносных сосудов, постепенно нарушается их целостность и проницаемость. Развивается эрозивно-десквамативная форма повреждения, которая представляет собой поверхностные нарушения целостности слизистых оболочек, сопровождается развитием эрозии. Постепенно в патологический процесс вовлекаются не только слизистые оболочки, но и более глубокие слои кишечной стенки. В результате поражения глубоких слоев развивается инфильтративно-язвенная форма повреждений.

Наиболее тяжелой является некротическая форма, которая сопровождается развитием очагов некроза, отмиранием пораженных участков прямой кишки [38].

Этиология постлучевых повреждений прямой кишки. Причин возникновения лучевых повреждений много. Это могут быть ошибки при проведении лучевой терапии, превышение допустимых доз облучения. Не учитываются особенности распределения излучения по тканям смежных органов [132, 133, 135].

Важным показателем является порог толерантности для каждого типа тканей. Превышение дозы облучения выше порога толерантности влечет за собой местное лучевое повреждение окружающих тканей.

Важно отметить, что общая лучевая реакция, ее особенности, степень выраженности, обусловлены не только прямым воздействием радиации, но и последствиями интоксикации. Во время облучения происходит распад опухоли, продукты распада обладают токсическим воздействием на организм.

Факторы риска развития постлучевых повреждений прямой кишки. В группу риска развития лучевых повреждений прямой кишки попадают все женщины с хронической патологией органов малого таза, которые получают лучевую терапию по поводу основного заболевания – рака шейки матки. При проведении лучевой терапии необходимо учитывать сопутствующую патологию, поскольку она является отягощающим фактором, увеличивающим риск развития лучевых повреждений. По некоторым данным, 70% лучевых повреждений ассоциировано с хронической патологией [99]. Также группу риска составляют лица с иммунодефицитами, и другими нарушениями иммунного статуса, с нарушениями гемодинамики, с сопутствующей патологией органов ЖКТ.

Патогенез постлучевых повреждений прямой кишки. Повреждения прямой кишки развиваются поэтапно. На первом этапе наблюдаются функциональные нарушения, обусловленные нарушением гемодинамики, гипоксией и интоксикацией. На втором этапе происходят изменения на морфологическом уровне, которые сопровождаются молекулярно-генетическими, биохимическими, иммунологическими нарушениями. На третьем

этапе происходит развитие воспалительного процесса, наблюдаются склеротические процессы, фиброз. Это приводит к дальнейшему прогрессированию состояния, постепенному развитию ректитов, проктитов. Постепенно слизистая оболочка становится более тонкой, что сопровождается развитием эрозий, изъязвлений, язв, и свищей.

В плане патогенеза практически все местные лучевые реакции сходны между собой. Однако в клиническом проявлении все они характеризуются многочисленностью проявлений и разнообразием. Общим также является то, что все они имеют определенные латентный период. Между облучением и проявлением первого клинического симптома должно пройти некоторое время. Продолжительность латентного периода зависит от дозы облучения: чем выше доза облучения, тем меньше продолжительность латентного периода. Важной особенностью лучевого повреждения прямой кишки является склонность к прогрессированию морфологических изменений. К примеру, поздние лучевые ректиты, эпителииты в большинстве случаев перерастают в лучевые раны, лучевые язвы, свищи [74].

Клиническая картина постлучевых повреждений прямой кишки. Клиническая картина лучевых повреждений зависит от функционального состояния организма, от состояния иммунной системы, гормонального фона. Обращает на себя внимание тот факт, что при общей лучевой реакции может наблюдаться повышенная раздражительность, головные боли, головокружение различной степени выраженности. Под воздействием лучевой нагрузки происходит опосредованное нарушение функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Довольно сильно выражены реакции со стороны желудочно-кишечного тракта. В частности, обращают на себя внимание такие реакции, как тошнота, рвота, диарея, сухость во рту, или же наоборот, усиленная саливация. Может появляться металлический привкус во рту, указывающий на разрушение форменных элементов крови, отравление. Довольно отчетливо выражены различные реакции со стороны кишечника и прямой кишки. Наблюдаются воспалительные, язвенные, эрозивные процессы [51; 52; 77].

В зависимости от выраженности клинических повреждений, все лучевые осложнения прямой кишки подразделяют на легкие и тяжелые. К легким повреждениям относят катаральные и эрозивные лучевые повреждения, к тяжелым относят язвенные и свищевые повреждения.

Симптомы постлучевых повреждений прямой кишки. В период проведения лучевой терапии могут наблюдаться такие неблагоприятные явления и симптомы, как боли в животе и в области ануса, тенезмы, диарея. Как правило, эти симптомы постепенно стихают по мере окончания курса лечения. В последующем, в процессе исследования методом ректоскопии, можно выявить лишь минимальные признаки атрофии слизистой оболочки прямой кишки.

Среди основных жалоб пациентов с лучевыми повреждениями прямой кишки следует рассматривать жалобы на наличие постоянного дискомфорта, болевых ощущений, которые особенно усиливаются в процессе дефекации. Также у пациентов часто наблюдается диарея, которая чередуется с запорами. При этом часто возникают примеси крови и слизи. Одним из распространенных симптомов являются частые и обильные ректальные кровотечения [51, 52].

Осложнения и результаты постлучевых повреждений прямой кишки. Постлучевые повреждения прямой кишки характеризуются стремительным прогрессированием, вплоть до развития язв и свищей. Также неблагоприятным последствием постлучевых повреждений прямой кишки, является развитие гематологической токсичности, которая зачастую сопровождается развитием анемии, лейкоцитопении, тромбоцитопении. Также наблюдается напряженность иммунитета, местные воспалительные реакции, нарушение нормального микробиоценоза. Наблюдаются признаки иммунодефицита, нарушение регенерационных способностей тканей, в результате чего патологическое состояние прогрессирует, слизистая оболочка становится более тонкой, развиваются язвы, свищи, которые с трудом поддаются заживлению.

Принципы диагностики и лечения постлучевых осложнений прямой кишки. Наиболее достоверным методом диагностики является эндоскопическое исследование. Часто применяется ирригоскопия, колоноскопия, МРТ, однако эти

методы позволяют определить только локализацию очага поражения, он не особенности его происхождения [129]. Проводится ректальное, вагинальное исследование.

Лечение постлучевых повреждений прямой кишки может быть как традиционным, так и радикальным, в зависимости от тяжести патологических явлений, прогрессирования патологического состояния. На начальных этапах широко применяется медикаментозная терапия, основу которой составляют противовоспалительные препараты – (месалазин, сукральфат, ректальные стероиды) в сочетании с контролем боли. Это обеспечивает успешное устранение симптомов в большинстве клинических случаев. В более тяжелых случаях, особенно при наличии кровотечений, эффективно химическое (формалин) или термическое (эндоскопическая коагуляция) воздействие и дальнейшая консервативная терапия. Хирургическое вмешательство требуется для лечения в тяжелых клинических случаях, может привести к значительному улучшению, однако сопровождается повышенным риском послеоперационных осложнений. В качестве альтернативы хирургического лечения на сегодня рассматривают клеточные технологии.

Что касается профилактики, в настоящее время не существует никаких адекватных профилактических мер, тем не менее большинство случаев лучевых повреждений прямой кишки поддаются лечению.

Реабилитация при постлучевых повреждениях прямой кишки. Пациентам с постлучевыми повреждениями прямой кишки в стадии ремиссии с целью ее сохранения рекомендуется санаторно-курортное лечение в санаторно-курортных организациях климатической зоны проживания пациента [4]. Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств — 5). Пациентам с постлучевыми повреждениями, через 2–3 месяца после стихания обострения рекомендуется санаторно-курортное лечение продолжительностью 14–21 день. На территории РФ, санаторно-курортное лечение может проводиться в санаториях Дорохово, Ессентуки, Железноводск и др. Включает в себя грязе- и

торфолечение, хвойно-морские ванны, питье щелочных минеральных вод, другие методы [33].

Таким образом, постлучевые повреждения прямой кишки представляют собой повреждения прямой кишки, возникшие после перенесенной лучевой терапии по поводу основного заболевания. Лучевые повреждения представляют собой поэтапные изменения в структуре и функциональном состоянии тканей, окружающих опухоль. Возникают после перенесенной лучевой терапии, если превышена толерантная нагрузка для органа. На ранних стадиях повреждения возникает лучевой фиброз, который зачастую сопровождается развитием воспалительного процесса, и перерастает в лучевой ректит. По мере прогрессирования ректита могут развиваться проктиты, постлучевые язвы, свищи.

В зависимости от характера патологического процесса, выделяют катаральные, эрозивно-десквамативные, инфильтративно-язвенные и некротические повреждения. К числу наиболее тяжелых патологий следует отнести некротические и инфильтративно-язвенные процессы [71].

Причин возникновения лучевых повреждений много. Чаще всего это ошибки при проведении лучевой терапии, превышение допустимых доз облучения. В группу риска развития лучевых повреждений прямой кишки попадают все женщины с хронической патологией органов малого таза, которые получают лучевую терапию по поводу основного заболевания. Также группу риска составляют лица с иммунодефицитами, и другими нарушениями иммунного статуса, с нарушениями гемодинамики, с сопутствующей патологией органов ЖКТ.

В плане патогенеза практически все местные лучевые реакции сходны между собой. Однако в клиническом проявлении все они характеризуются многочисленностью проявлений и разнообразием.

В зависимости от выраженности клинических повреждений, все лучевые осложнения прямой кишки подразделяют на легкие и тяжелые. К легким повреждениям относят катаральные и эрозивные лучевые повреждения, к тяжелым относят язвенные и свищевые повреждения.

Среди основных жалоб пациентов с лучевыми повреждениями прямой кишки следует рассматривать жалобы на наличие постоянного дискомфорта, болевых ощущений, которые особенно усиливаются в процессе дефекации. Одним из распространенных симптомов являются частые и обильные ректальные кровотечения [51, 52].

Постлучевые повреждения прямой кишки характеризуются стремительным прогрессированием, вплоть до развития язв и свищей. Также неблагоприятным последствием постлучевых повреждений прямой кишки, является развитие гематологической токсичности, которая зачастую сопровождается развитием анемии, лейкоцитопении, тромбоцитопении. Также наблюдается напряженность иммунитета, местные воспалительные реакции, нарушение нормального микробиоценоза. Наблюдаются признаки иммунодефицита, нарушение регенерационных способностей тканей, в результате чего патологическое состояние прогрессирует, слизистая оболочка становится более тонкой, развиваются язвы, свищи, которые с трудом поддаются заживлению.

Наиболее достоверным методом диагностики является эндоскопическое исследование. Лечение постлучевых повреждений прямой кишки может быть, как традиционным, так и радикальным, в зависимости от тяжести патологических явлений, прогрессирования патологического состояния.

Что касается профилактики, в настоящее время не существует никаких адекватных профилактических мер, тем не менее большинство случаев лучевых повреждений прямой кишки поддаются лечению. В целях реабилитации пациентам с постлучевыми повреждениями прямой кишки в стадии ремиссии с целью ее сохранения рекомендуется санаторно-курортное лечение.

1.1.1. Особенности этиологии и патогенеза проктитов. Тактика диагностики и лечения

Наиболее характерным следствием лучевой терапии становится радиационный проктит, сопровождающийся слизистыми выделениями, диареей, ректальными кровотечениями, тенезмами, болевым синдромом, формированием свищей, рубцовыми стенозами, малигнизацией и пр. [44, 50, 55, 77, 119,133].

Согласно данным ряда исследователей, удельный вес заболеваемости хроническим лучевым проктитом не отражает полной объективной картины распространенности этой нозологии. 9% пациентов, страдающих радиационным проктитом, в своих жалобах отмечают умеренное снижение качества жизни, до 55% пациентов отмечают значительную функциональную дисфункцию со стороны толстой и прямой кишки.

Проктит - воспаление прямой кишки. Различают острый и хронический проктит. Острый проктит бывает результатом инфекционного, токсического, радиационного или химического воздействия на слизистую оболочку кишки.

Клиническая картина острого проктита проявляется в лихорадке, частом жидком стуле, тенезмах, выделении большого количества слизи, иногда крови и гноя. По характеру морфологических изменений проктит бывает катаральный, эрозивно-язвенный, фибринозный и т.д. При микроскопии (эндоскопии) слизистая оболочка отечна, гиперемирована, покрыта слизью или гноем, при язвенном проктите - с изъязвлениями.

Слизистая оболочка гиперемирована, легко ранимая, отечно-гипертрофична. Изолированный проктит может протекать в виде криптита (воспаление слизистой оболочки морганьевых крипт), папилита (воспаление сосочков), пектеноза (воспаление всей гребешковой линии) или сфинктерита (воспаление всего анального канала).

Лечение первичного проктита обычно консервативное. При остром проктите применяют общие и местные мероприятия. Общие мероприятия определяются этиологией проктита и включают постельный режим, назначение антибиотиков, анальгетических, спазмолитических и других средств. Местное лечение состоит в орошении прямой кишки антисептическими препаратами (микроклизмы); показаны свечи, теплые сидячие ванночки, смазывание кожи стероидными мазями и т.д. При изолированном проктите (воспаление отдельных папилл и крипт) показано хирургическое лечение - иссечение сосочка или крипты.

Трудности в изложении жалоб, специфика необратимых поздних постлучевых изменений, рецидивирующее течение лучевого проктита, несмотря на проводимую терапию, затрудняют своевременную диагностику, а, следовательно, и результаты лечения радиационного проктита [63, 97, 119, 130].

Отсутствие унифицированных критериев диагностики и единой классификации тяжести поражения пациентов, мультисимптомная клиническая картина, препятствуют разработке общепризнанного, более эффективного стандарта терапии хронического радиационного проктита; на практике приоритетным способом лечения этого заболевания остаётся лишь симптоматическая терапия [45, 53, 54, 59, 75, 122]. Осуществляются попытки создания таких стандартов и проведения их клинической оценки, сопоставления результатов различных способов и методик диагностики и лечения.

F.C. Den Hartog-Jager, P. Cohen, M. van Haastert [96], выполнив обзор литературы, пришли к заключению, что поздние лучевые осложнения встречаются редко, могут иметь разнообразные проявления, трудно диагностируются. **Достаточно редкие и очень полиформные проявления позднего лучевого проктита требуют регулярного системного мониторинга эффективности, для выявления наиболее релевантного метода лечения[117].**

Представленный W.M. Mendenhall, B.T. McKibben [119] систематический обзор (2014), наглядно демонстрировал сравнение эффективности эндоскопических и медикаментозных (консервативных) методик лечения

хронического лучевого проктита [13]. Авторами использованы поисковые системы MEDLINE и PubMed. В обзор были включены публикации, свидетельствующие о результатах лечения больных лучевым проктитом, и в стационарных, так и в амбулаторных условиях, с широким применением эндоскопических методов воздействия и медикаментозной терапии во временном интервале с января 1990 до декабря 2010г. Уровень доказательности был оценен по критериям требований рабочей группы по разработке, оценке и экспертизе степени обоснованности клинических рекомендаций (Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation Working Group). Приоритетным критерием оценки эффективности проведенного лечения было полное купирование или снижение проявлений симптомов радиационного проктита.

Проведенный анализ данных, W.M.Mendenhall, B.T. McKibben [119], демонстрирует эффективность аргоноплазменной коагуляции в виде «стирания» симптомов лучевого проктита в краткосрочный период (≤ 6 недель), но указывают на недостаточность доказательной базы для оценки отдаленных результатов [119].

Эндоскопическое использование аргоноплазменной коагуляции дает кратковременный эффект на течение хронических лучевых проктитов. Локальное использование сукральфата не может быть рекомендовано для применения в клинической практике в следствии низкой достоверности полученных результатов эффективности и безопасности. Для анализа эффективности консервативных и эндоскопических методов лечения радиационного проктита необходимо планирование и проведение рандомизированных плацебо-контролируемых исследований, с исключением неоднозначно трактуемых критериев отбора пациентов и планом терапии, формальным протоколом и мониторингом, обеспечивающим унифицированный учет полученных результатов, не исключающих оценку качества жизни [100].

По опубликованным данным, 5-10% лучевых проктитов носят инфильтративно-язвенный характер, при этом ректальные язвы могут быть довольно обширными и проникать на всю толщу ректовагинальной перегородки

[7, 4, 13, 25]. В 4,5-8% случаев лучевые проктиты завершаются тяжелыми лучевыми повреждениями в виде ректовагинальных язв, которые затем переходят в ректовагинальные свищи [4, 7, 25].

В 2011 г. группой сотрудников отделения колоректальной хирургии медицинского центра Гарвардской медицинской школы (Do N.L., Nagle D., and Roylin V.Y., 2011) был предложен алгоритм ведения пациентов с ЛП в зависимости от степени тяжести заболевания и имевшихся на тот момент в арсенале врачей лекарственных средств и методов лечения. Выбор терапии зависит от степени тяжести ЛП. В случае легких и среднетяжелых поражений применяется медикаментозная терапия, при тяжелых и рефрактерных формах – эндоскопическое и хирургическое лечение.

Таким образом, наиболее характерным следствием лучевой терапии становится радиационный проктит. Клиническая картина острого проктита проявляется в лихорадке, частом жидком стуле, тенезмах, выделении большого количества слизи, иногда крови и гноя. Слизистая оболочка гиперемирована, легко ранимая, отечно-гипертрофична. Лечение первичного проктита обычно консервативное.

Отсутствие унифицированных критериев диагностики и единой классификации тяжести поражения пациентов, мультисимптомная клиническая картина, препятствуют разработке общепризнанного, более эффективного стандарта терапии хронического радиационного проктита; на практике приоритетным способом лечения этого заболевания остается лишь симптоматическая терапия. Лучевой проктит характеризуется тенденцией к прогрессированию. Поэтому проктит часто перерастает в язвы, свищи. В тяжелых случаях применяются хирургические методы, однако, они зачастую оказываются неэффективными, так как сопровождаются многочисленными осложнениями и рецидивами. Все это говорит о необходимости поиска более эффективных методов лечения.

1.1.2. Структура язв прямой кишки в парадигме лучевой терапии

Под лучевыми язвами подразумевают дефекты мягких тканей, в том числе прямой кишки, которые длительный период времени не заживают. Характерной чертой является то, что появляются такие язвы в результате воздействия лучевой терапии. В большинстве случаев, латентный период составляет примерно 12 месяцев после окончания лучевой терапии, а иногда даже значительно больше. В основе патогенеза лучевых язв лежит нарушение тканевой микроциркуляции. В дальнейшем развивается ишемический некроз пораженных тканей [30].

Характерной чертой является то, что язвенная поверхность длительное время не поддается заживлению, что объясняется нарушением репарационных процессов. На фоне иммунных, гормональных нарушений и снижения репарационных свойств тканей, развивается хронический воспалительный процесс. Отличительной чертой, которая отличает лучевые язвы от других язв, является длительный период экссудации язвы и отсутствие заживления тканей. Также крайне медленно происходит отторжение некротизированной ткани, в связи с чем изменяется микрофлора и резко возрастает риск развития септических процессов. Заживление язвы сопровождается развитием грануляционной ткани, при этом в дальнейшем происходит эпителизация и рубцевание основной ткани. Этот процесс протекает крайне медленно, и может длиться в течение нескольких лет.

Основные жалобы пациентов с лучевыми язвами [30, 33]:

1. Сильные, нестерпимые боли, сильный зуд в области развития патологического процесса;
2. Непереносимость лекарственных препаратов (повышенная чувствительность, сенсibilизация, аллергические реакции). Основной причиной развития подобной реактивности организма являются иммунные нарушения, в частности, наличие антител к аутоантигенам клеток организма, а также изменение основных звеньев иммунного ответа;

3. Значимая роль отводится качественным и количественным преобразованиям микрофлоры, развитию глубокого дисбактериоза. Изменение состава основного микробиоценоза влечет за собой нарушение колонизационной резистентности микрофлоры, что приводит к нарушению системы неспецифической резистентности, нарушению основных звеньев иммунного ответа, снижению естественных механизмов защиты организма.

Как показывают многочисленные исследования состава микрофлоры поверхности лучевой раны, происходит ее резкое изменение. При этом меняются как качественные, так и количественные характеристики. Ведущая роль отводится формированию анаэробной и гнилостной микрофлоры, сапрофитной среды, что существенно повышает риск развития раневых инфекций, гнойного воспаления, гангрены, вплоть до бактериемии и сепсиса.

Исследования последних лет показывают, что ведущая роль в развитии раневых инфекций, язвенных процессов любой локализации, в том числе, и в области прямой кишки, влагалища, отводится микст-инфекции, которая представлена ассоциацией микроорганизмов, их устойчивыми объединениями в состав биопленок, ассоциации. Ряд литературных источников показывает, что на поверхности лучевых ран обнаруживаются преимущественно ассоциации, представленные анаэробными, факультативно анаэробными и аэробными микроорганизмами, которые персистируют на поверхности и в толще слизистой оболочки прямой кишки, влагалища и ректовагинальной перегородки.

Анализ литературы показывает, что ни у одной пациентки, вне зависимости от вида лучевого повреждения прямой кишки, монокультуры микроорганизмов не выделено.

Как показывают результаты, у пациентов без лучевых повреждений, выделяется в среднем 20-23 штамм микроорганизмов, тогда как у пациентов с развитием постлучевых язв, на поверхности язвы, выделяют в среднем 40-45 штаммов.

Это подтверждает тот факт, что у пациенток, не имеющих осложнений в виде постлучевых повреждений мягких тканей и прямой кишки, дисбактериоз и

нарушение количественных и качественных характеристик микрофлоры, наблюдается значительно реже, по сравнению с группой, имеющих длительные, незаживающие раны. Также стоит отметить, что у пациентов, получавших лучевую терапию, и имеющих в анамнезе постлучевые повреждения прямой кишки, в 7 случаях были выделены патогенные для данных биотопов микроорганизмы. Тогда как у пациентов, не имеющих постлучевых повреждений, патогенных микроорганизмов не было выделено, что еще раз указывает на важность иммунной и неспецифической защиты организма, участие репарационных процессов в поддержании нормального функционирования слизистых оболочек прямой кишки и женских репродуктивных органов.

Известны летальные случаи, поскольку в состоянии сниженного иммунного статуса организма не способен противостоять патогенной микрофлоре [8]. Также исследования показывают изменение состава микрофлоры в сторону процесса биопленкообразования, образования микробных ассоциаций. Стоит отметить, что примерно у 2/3 пациентов отмечается наличие устойчивых микробных ассоциаций. Преобладают при этом монокультуры стафилококка. Микробные биопленки и ассоциации характеризуются высокой устойчивостью к терапии, а также к воздействию иммунной системы организма. Кроме того, в составе биопленки складываются оптимальные условия для размножения и распространения микроорганизмов, что способствует резкому прогрессированию инфекции и выработке устойчивости к терапии. Длительно незаживающая рана может обрести эрозивный характер и перерасти в ректовагинальный свищ.

Типичными язвами являются сезонные (весной и осенью) периоды усиления болей, диспепсических симптомов, геморрагий. В неосложненных случаях язва протекает обычно с чередованием периодов обострения (продолжительностью от 3–4 до 6–8 недель) и ремиссии (длительностью от нескольких недель до многих лет). Под влиянием неблагоприятных факторов (например, таких, как физическое перенапряжение, прием НПВП и/или препаратов, снижающих свертываемость крови, злоупотребление алкоголем) возможно развитие осложнений. К ним относятся кровотечение, перфорация и пенетрация язвы, формирование рубцово-

язвенного стеноза, малигнизация язвы. Язвенное (ректальное) кровотечение наблюдается у 15–20 % пациентов. Факторами риска его возникновения служат прием ацетилсалициловой кислоты и НПВП, инфекция и размеры язв >1 см [5].

Иногда на первое место в клинической картине язвенного кровотечения выступают общие жалобы (слабость, потеря сознания, снижение артериального давления, тахикардия). На фоне обострения язвы возникают упорные боли, кровотечение, повышается температура тела, в анализах крови выявляется повышение СОЭ.

Опасным состоянием является малигнизация (озлокачествление) доброкачественной язвы. В анализах крови обнаруживаются анемия, повышение СОЭ. Окончательное заключение ставится при гистологическом исследовании биоптатов, взятых из различных участков язвы [33].

Таким образом, под лучевыми язвами подразумевают дефекты мягких тканей, в том числе прямой кишки, которые длительный период времени не заживают. В основе патогенеза лучевых язв лежит нарушение тканевой микроциркуляции. В дальнейшем развивается ишемический некроз пораженных тканей [30].

Характерной чертой является то, что язвенная поверхность длительное время не поддается заживлению, что объясняется нарушением репаративных процессов. На фоне иммунных, гормональных нарушений и снижения репаративных свойств тканей, развивается хронический воспалительный процесс. Отличительной чертой, которая отличает лучевые язвы от других язв, является длительный период экссудации язвы и отсутствие заживления тканей. Основные жалобы пациентов с лучевыми язвами - сильные, нестерпимые боли, сильный зуд в области развития патологического процесса; непереносимость лекарственных препаратов.

Основной причиной развития подобной реактивности организма являются иммунные нарушения, в частности, наличие антител к аутоантигенам клеток организма, а также изменение основных звеньев иммунного ответа. Значимая

роль отводится качественным и количественным преобразованиям микрофлоры, развитию глубокого дисбактериоза.

1.1.3. Характеристика ректовагинальных свищей

Под ректовагинальным свищем (РВС), следует подразумевать тяжелое свищевое поражение ректовагинальной перегородки, при котором формируется сквозное отверстие между влагалищем и прямой кишкой [5]. Т.А. Бапиев отмечает, что в качестве основных последствий РВС, выступает физический дискомфорт, резкое снижение качества жизни, болевые ощущения. В большинстве своем РВС не относятся к жизнеугрожающим состояниям. Их рассматривают скорее, как дефекты, нарушающие нормальное физиологическое состояние и психологическое самочувствие пациенток [8].

В.А. Бурковская отмечает, что наиболее сложная группа больных с ректовагинальными свищами - онкологические пациентки, получающие лучевую терапию. У них в качестве осложнения развиваются постлучевые ректовагинальные свищи. Лучевая терапия активно используется в онкогинекологии в качестве самостоятельного метода лечения, а также входит в состав комбинированных и комплексных схем терапии. Возможные постлучевые осложнения обусловлены непосредственной анатомической близостью органов женской мочеполовой системы и прямой кишки. Лучевая терапия в лечении онкогинекологических заболеваний сопряжена с достаточно высоким риском повреждений. И связано это с воздействием на так называемые «критические» органы и ткани, имеющие ограниченную толерантность [12].

Дж.Ф. Дисаи и У.Т. Крисман (2012) считают, что осложнения после адекватной лучевой терапии у больных раком шейки матки и влагалища минимальны. А возможные постлучевые осложнения объясняют неадекватными методиками и режимами облучения [28]. По данным З.А. Довлатова, частота возникновения лучевого проктита при традиционной сочетанной лучевой терапии рака шейки матки составляет 9,4%, а в сочетании с полихимиотерапией — 12,1% [29].

К.А. Клименко, З.С. Цаллагова [42] проанализировали опыт лечения 784 пациентов, страдающих раком шейки матки. Все они получали лучевую терапию. При этом у 7% пациенток (55 человек) в качестве позднего постлучевого осложнения развились ректовагинальные свищи. В среднем, частота возникновения постлучевого свища как позднего лучевого осложнения, наблюдается в 1-10% случаев. Исследователи установили, что обычно такие свищи образуются спустя 6-12 месяцев после проведенного курса лучевой терапии. Все свищи возникали на фоне лучевого проктита, который предшествовал их образованию. Преимущественное место локализации – верхняя треть влагалища. Свищи могут достигать довольно крупных размеров, края их плотные [42].

О.Б. Лоран говорит о том, что часто РВС становятся причиной инвалидизации женщины. Одним из неблагоприятных симптомов РВС является постоянное самопроизвольное выделение кала, слизи, содержимого кишечника, отхождение газов через влагалище. Разумеется, это резко снижает качество жизни, становится причиной социальной изоляции женщины, препятствует становлению нормальных интимных отношений. Такие женщины воздерживаются от половой жизни, это часто становится причиной разрыва отношений, разводов. Особенно неблагоприятна такая ситуация для молодой незамужней женщины (ее шансы на замужество резко сокращаются) [51]. На снижение качества жизни пациенток с РВС указывает и ряд зарубежных исследователей [115, 120, 129, 130].

Как отмечает В.В. Пасов, постлучевые свищи выделяют в отдельную категорию, поскольку это сложнейшая нозология, которая требует специфического подхода и к диагностике, и к лечению. Они довольно сложно поддаются лечению, практически не заживают самопроизвольно, характеризуются склонностью к рецидивирующему течению [60]. Возникают они под воздействием лучевой нагрузки в связи с превышением суммарной дозы, либо в связи с низкой толерантностью мягких тканей [80].

Как отечественные, так и зарубежные авторы едины в мнении о том, что лучевые свищи трудно поддаются эпителизации, склонны к образованию рецидивов, поскольку их развитие ассоциировано со снижением иммунитета, нарушением биохимических показателей, нарушением репарационных способностей облученных тканей, развитием оксидативного стресса [80, 108, 112, 115].

В трудах Визир В.А. приведена клиническая классификация постлучевых свищей (дефектов) [17]:

I степень – возможно самостоятельное заживление в случае консервативной терапии (сумма баллов 0–1);

II степень – возможна пластика местными тканями (сумма баллов 1–2);

III степень – необходима резекция органа, возможна реконструкция (сумма баллов 3–6);

IV степень – необходимо удаление органа, возможна реконструкция (сумма баллов 7–9);

V степень – необходимо удаление органа, его реконструкция невозможна (сумма баллов 10–13).

При I степени тяжести свищей в качестве адекватной терапии предусмотрено проведение консервативной терапии с дренированием соответствующего органа (уретральный катетер, чрескожная пункционная нефростомия, колостомия), назначение М-холинолитиков для снятия спазмов, препаратов эстрогенового ряда и коагуляция по O'Soneg в целях запуска каскада реакций для регенерации слизистых оболочек [17].

При свищах II степени тяжести можно добиться их коррекции посредством резекции зоны свища с отдельным ушиванием сообщающихся органов согласно принципам, описанным О.Б. Лораном [49]. Принципиальным является использование абдоминального доступа, так как он позволяет полноценно оценить состояние местных тканей, соседних анатомических структур, а также использовать большой сальник в качестве пластического материала [17].

В случае диагностики свища III степени тяжести пациентам показана резекция части органа, несущей свищ с последующей реконструкцией. Резекционный этап заключается в иссечении части органа или органов вместе со свищем. При реализации реконструктивно-пластического этапа для полноценного восстановления резецированных органов требуется аутопластика. В то время как на прямой кишке возможно формирование первичного толстокишечного анастомоза с превентивной колостомией [17].

При IV степени тяжести свища возможно лишь удаление всего органа, так как в такой ситуации поражена вся его функциональная часть. Однако на реконструктивно-пластическом этапе возможно применение аутопластики с замещением целого органа. При поражении прямой кишкой речь идет о формировании колоанального анастомоза с превентивной колостомией [17].

В.Л. Медведев отмечает, что ректовагинальные свищи легко поддаются диагностике. Их можно выявить в ходе стандартного гинекологического обследования в зеркалах, при бимануальном влагалищном и ректовагинальном исследовании. Дополнительными методами диагностики РВС, может стать зондирование и прокрашивание свищевого хода. Как правило, прокрашивание применяется при наличии свищей небольшого размера. Также при недостаточности информации может использоваться эндоскопическое или рентгенологическое исследование [53].

В целом, вопросу реабилитации пациентов с постлучевыми ректовагинальными свищами (РВС), уделяется недостаточно внимания, как в отечественной, так и в зарубежной литературе. В связи с тем, что для РВС характерны многочисленные изменения в зоне формирования свища,

наблюдаются выраженные изменения кровоснабжения, местного иммунитета, биохимических показателей, имеет место рубцовая деформация, глубокое снижение репарационных процессов, РВС довольно сложно поддаются лечению, наблюдается склонность к рецидивирующему течению [3, 5, 8, 9, 25, 46, 50, 67, 87, 105]. Поэтому большинство пациентов просто получает отказ в квалифицированной медицинской помощи [36,80].

Следовательно, под ректовагинальным свищем (РВС), следует подразумевать тяжелое свищевое поражение ректовагинальной перегородки, при котором формируется сквозное отверстие между влагалищем и прямой кишкой [8].

В.А. Бурковская отмечает, что постлучевые свищи выделяют в отдельную категорию, поскольку это сложнейшая нозология, которая требует специфического подхода и к диагностике, и к лечению. Они довольно сложно поддаются лечению, практически не заживают самопроизвольно, характеризуются склонностью к рецидивирующему течению [12]. Возникают они под воздействием лучевой нагрузки в связи с превышением суммарной дозы, либо в связи с низкой толерантностью мягких тканей. Лучевые свищи трудно поддаются эпителизации, склонны к образованию рецидивов, поскольку их развитие ассоциировано со снижением иммунитета, нарушением биохимических показателей, нарушением репарационных способностей облученных тканей, развитием оксидативного стресса [38].

1.2. Обзор традиционных методов лечения постлучевых повреждений прямой кишки

Существуют различные варианты лечения постлучевых повреждений прямой кишки. Т.А. Бапиев [6,7,9] отмечает, что традиционным методом лечения является медикаментозная терапия, суть которой сводится, прежде всего, к

применению противовоспалительных средств, направленных на купирование воспалительного процесса и снижение инфильтрационных процессов в области пораженного участка. В первую очередь применяются такие противовоспалительные средства, как сульфасалазин, бальсалазид, месалазин [9]. Широкое применение находят антиоксиданты, сукральфат, формалин, стероидные клизмы, натрий-бутиратные клизмы, гипербарическая кислородная терапия, пентоксифиллин, терапия ребамипидной клизмой, эстроген / прогестерон, полисульфат пентасана и мизопростол [7].

По мнению некоторых авторов [6, 7, 91, 92, 121, 122, 128], первой линией лечения должен выступать 4% формалин. Одинаково эффективные методы – формалин и аргоновая плазменная коагуляция (АРС). Однако при тяжелых состояниях лучше отдавать предпочтение формалину. Так, анализ литературных данных указывает на то, что 4% раствор формалина является наиболее эффективным, безопасным средством, которое хорошо переносится пациентами при лечении острых и хронических форм лучевых повреждений. Формалин применяют при лечении хронического геморрагического проктита, обусловленного воздействием лучевой терапии, как с минимальными проявлениями, так и с более тяжелой выраженностью симптомов.

Наблюдаются случаи, при которых пациенты оказываются не чувствительными ни к формалину, ни к АРС [119]. В таком случае им рекомендуется проводить гипербарическую кислородную терапию, либо прибегают к хирургическому лечению. Общие показатели ответа на некроз мягких тканей при хронических и геморрагических формах заболеваний, составляют соответственно 95% и 85%. Весьма перспективным направлением является применение радиочастотной абляции. Однако в данном случае требуется дальнейшее исследование и проведение комплексных рандомизированных исследований [107, 119, 136].

В некоторых источниках описан опыт локального применения диметилсульфоксида (ДМСО) с целью профилактики и лечения лучевых поражений прямой кишки. Так, в схемах локальной радиомодификации

применение ДМСО для лечения рака шейки матки у пациенток показало достоверно значимое снижение частоты поздних лучевых повреждений во всех 100% случаев. Стоит отметить, что исследования проводились не только в сравнении с контролем, но и в сравнении с применением 10% ДМСО [117,131].

Таким образом, несмотря на то, что существует довольно большое многообразие вариантов медикаментозного лечения лучевых проктитов, однозначного ответа по поводу того, какой метод является наиболее эффективным, до сих пор не существует. Мнения авторов резко расходятся. Для определения наиболее эффективного метода нужны дальнейшие рандомизированные исследования.

П. Фрай отмечает, что опасность радиационных проктитов состоит в том, что существует риск развития ректальных кровотечений. При этом традиционная медикаментозная терапия оказывается неэффективной, хирургический метод характеризуется высокой смертностью и риском развития послеоперационных осложнений [68]. Наиболее известными методами лечения постлучевых повреждений является формалин, калий-титанилфосфатный, неодимовый, иттрий-алюминий-гранатовый, аргоновый лазер, биполярная электрокоагуляция (ViCAP), нагревательный зонд, лигирование зон, криотерапия, радиочастотная абляция и аргоноплазменная коагуляция (АРС) [109, 132].

Среди всех перечисленных вариантов лечения лучевых повреждений, к числу наиболее эффективных средств следует отнести именно АРС. Это наиболее перспективный метод в связи с тем, что он является доступным, эффективными, вероятность осложнений минимальна. Лазерное лечение рассматривается как устаревшая технология, и в настоящее время практически не применяется [90, 132,133].

Многочисленные исследования отечественных авторов [7, 8, 25, 67, 88] подтверждают, что в настоящее время стандартом терапии выступает эндоскопическая терапия, в состав которой входят также контактные методы, например, коагуляция аргоновой плазмой, применение биполярного электрокаутера, зонда-нагревателя, криотерапия, радиочастотная абляция.

Хирургические методы лечения применяются в резистентных или рефрактерных случаях. Аналогичная тенденция прослеживается и в зарубежных исследованиях [95, 102, 116].

Одним из перспективных направлений лечения постлучевых повреждений прямой кишки является интервенционная эндоскопия [116]. Суть процедуры состоит в неоперативном подходе к хирургическим условиям. У пациентов, которым было произведено подобное вмешательство, в соответствии с подробным клиническим алгоритмом, отмечается достоверное улучшение состояния, снижается выраженность клинической симптоматики. Показатели существенно улучшились, особенно при сравнении с группой контроля, которая не получала подобной терапии. Многочисленные рандомизированные исследования показали эффективность использования аргоноплазменной коагуляции с целью лечения поздних лучевых повреждений. Широко применяется биполярное прижигание, лазерная и радиочастотная абляция. Родственным методом является метод светодиодной фотомодуляции заживления ран [100, 127, 130, 131, 132].

В последние годы появились многочисленные публикации [100, 109, 120], в которых показана эффективность применения низкоинтенсивного лазерного излучения. Исследовалось его влияние на болевой синдром, на процессы заживления ран, процессы неоваскуляризации. Позитивное влияние указанных процессов на течение лучевых повреждений доказано рядом рандомизированных исследований.

Принцип метода состоит в том, что под действием излучения существенно повышается адаптационный потенциал клеток и тканей, нормализуются метаболические процессы в облучаемых участках. Существенно усиливается кровообращение, нормализуются функциональные способности клеток крови, нормализуются трофические процессы, улучшается кровообращение. В результате, существенно ускоряется регенерация клеток крови. Кроме того, в процессе лечения происходит нормализация функциональных способностей

клеток крови, повышается местный и системный иммунитет, что приводит к ускорению регенерации [116, 132].

Стоит обратить внимание на исследования M. Garthwaite, [108], S.W. Kang, J.B. Chung, J.S. Kim [125]. Так, они пришли к выводу о том, что низкоинтенсивное излучение действительно способствует ускоренному заживлению ран. Однако для того чтобы говорить о систематичности и достоверности результатов, необходимо провести многочисленные рандомизированные исследования, в рамках которых результат будет подтвержден.

M. Sato, K. Uchida, H. Nakajima [104] также исследовали низкочастотное излучение (НИЛИ). Было показано, что результативность его применения частично сопряжен с термическим воздействием. Однако, до сих пор не ясно, является ли фотохимическое излучение благоприятным для окружающих тканей, и каковы его отделенные последствия, безопасность.

Стоит отметить результаты исследований M. Sato, K. Uchida, H. Nakajima [104], M. Mendenhall, B.T. McKibben, B.S. Hoppe [119], которые указывают на то, что лазерное воздействие в низком и среднем диапазоне, способствует ускорению пролиферативных процессов в клетках, тогда как излучение высокой частоты, наоборот, блокирует частоту и интенсивность пролиферации, нивелируя положительные эффекты терапии. Тем не менее, данных недостаточно для того чтобы вывести закономерность.

В исследовании, представленном A. Sterodimas, J. De Faria, B. Nicaretta, F. Bogiani [96], регестрировалось дозозависимое снижение микробной нагрузки коррелирующее с концентрациями фотосенсебилизатора при сравнении с группой плацебо сразу после проведенного сеанса, с отрицательным прогрессом эффекта во время последующего мониторинга результатов. В процессе данного наблюдения клинически значимых осложнений у пациентов не зафиксировано.

S. Kumar [115], было исследовано воздействие лазерной энергии различных мощностей, применяемых в фотодинамической терапии лучевых язв, спровоцированных лучевой альтерацией. Течение репаративных процессов, по наблюдениям авторов, разнилось в зависимости от мощности воздействия. При

фотодинамической терапии и мощности энергии 0,1 Дж/см² скорость репарации была существенно выше в раннем периоде. При экспозиции лазером 5 и 40 Дж/см² ускорение восстановительных процессов регистрировалось на 14 сутки и в более поздние сроки после воздействия. Исследователи заключили, что применение лазера с плотностью энергии 5 Дж/см² является предпочтительно оптимального с точки зрения сроков и эффективности заживления постлучевых язв [115].

L.K. Weaver отмечает, что гипербарическая кислородная терапия (ГОТ) считается полезной расширенной вспомогательной терапией проблемных ран. Первичные эффекты являются результатом повышенного давления и гипероксии. Действительно, РаО₂ может увеличиваться с менее 200 мм рт.ст. при атмосферном давлении воздуха 1 атм (АТА) до более чем 2000 мм рт.ст. при 3 АТА. Вторичный эффект обусловлен контролируемым окислительным стрессом и включает противомикробный эффект, притупление ишемической реперфузионной травмы и заживление ран. Лечение ран является результатом как местных, так и системных эффектов [136]

Местные эффекты включают в себя повышение парциального давления кислорода, привлечение макрофагов и выделение нескольких факторов роста. Системные эффекты приводят к мобилизации стволовых клеток-предшественников и высвобождению из костного мозга и выходу их к месту повреждения. Результаты как локальных, так и системных эффектов включают в себя неоваскулогенез и образование коллагена, которые способствуют заживлению ран [136].

Как и во всех медицинских препаратах, подобные методы обнаруживают потенциальные побочные эффекты в результате лечения. К ним относятся различные формы баротравмы, центральной нервной системы (ЦНС) и токсичности кислорода в легких, а также побочные эффекты глаз [136]. Есть также вопросы клаустрофобии.

В течение десятилетий данная терапия использовалась при хронических кишечных синдромах после лучевой терапии в области таза, но доказательства её

эффективности основаны почти исключительно на нерандомизированных исследованиях. Т. Tiryaki, N. Findikli, D. Tiryaki [133], изучили эффективность у 44 пациентов с лучевым поражением таза, которые были устойчивы к традиционным оральным или местным методам лечения. Среднее число сеансов составило 35, в пределах от 6 до 90. Лечение уменьшило многие симптомы: тенезмы ($P = 0,02$), кровотечение ($P = 0,0001$), изъязвление ($P = 0,001$) [132].

Позднее J. Pak, J.H. Lee, K.S. Park [103] провели двойное слепое плацебо контролируемое рандомизированное исследование и несмотря на некоторые клинические данные и правдоподобные патофизиологические механизмы, оправдывающие ожидание терапевтического эффекта гипербарической кислородной терапии, не обнаружили клинически или статистически значимого клинического преимущества этой терапии для пациентов с хронической желудочно-кишечной дисфункцией [103].

Таким образом, ГОТ является не только эффективным радиомодификатором, но и фактором, улучшающим регенерацию ран на фоне ЛТ [136].

Отдельного рассмотрения требуют методы лечения ректовагинальных свищей, поскольку тактика их лечения отличается от тактики лечения язв и проктитов. Консервативное лечение постлучевых свищей в подавляющем числе наблюдений неэффективно, однако некоторые авторы рекомендуют проводить его при небольших размерах свища (до 0,5 см) и в первые 12 месяцев с момента его появления [8]. Попытки консервативного лечения возможны при тяжелых сопутствующих заболеваниях, отказе от операции [9]. Лечение длительное (6-8-12 недель), включает комплекс мероприятий, направленных на укрепление защитных сил организма, устранение воспалительных явлений, стимуляцию репаративных процессов, купирование болей [15].

Обязательно местное (интрапузырное или интраректальное) применение противовоспалительных и стимулирующих препаратов (5-10% раствор димексида с добавлением преднизолона, метилурацил, витаминизированные масла и др.). Также местно применяется низкоинтенсивное лазерное излучение. Комплексное лечение 61 больной с обязательным парентеральным питанием в течение 7 дней

при ректовагинальных свищах с целью создания функционального покоя для кишки привело к заживлению свища у 6,5% больных, 59% отметили улучшение [76].

Однако, в последующем у всех пациенток, которым удалось полностью закрыть свищ, отмечен рецидив [26, 29, 87, 112]. В настоящее время консервативное лечение применяется как этап предоперационной подготовки [90].

Основное проявление свищей – выделение газа и кала из влагалища – приводит к выраженному воспалительному процессу во влагалище, обострению имеющегося постлучевого кольпита, раздражению и воспалению покровов промежности и внутренней поверхности бедер. Вследствие этого тактика лечения лучевых ректовагинальных свищей почти всегда требует наложения колостомы для уменьшения воспалительных процессов в области свища [5, 12, 37, 67, 93, 102]. Этот процесс может длиться не менее 8 недель. В среднем противовоспалительная терапия может продолжаться 3-6 месяцев [94].

Ряд авторов сходится во мнении, что наложение трансверзостомы более целесообразно, чем сигмостомы [48, 49, 76, 115]. Образование колостомы на сигмовидной кишке вызывает больше осложнений, чем на поперечной кишке за счет частичного облучения кожи в этой области, а также самой кишки. Кроме того, при выполнении колостомы на сигмовидной кишке неизбежны манипуляции с тонким кишечником, что может вызвать такие осложнения, как спаечная непроходимость, свищи, медленное заживление раны [28].

В литературе описаны случаи самостоятельного заживления свищей небольшого диаметра после наложения колостомы [14, 37, 115], что дает основание некоторым хирургам рекомендовать выжидательную тактику на протяжении 8-12 месяцев [37, 115].

Н.Ш. Эргашев отмечает, что наложение колостомы может представлять собой и окончательный паллиативный способ лечения ректовагинальных свищей [93]. Хирургов всегда волновал вопрос, как создать наиболее выгодную в функциональном отношении колостому с минимальным числом осложнений. В

результате было предложено много способов формирования противоестественного заднего прохода - в настоящее время их насчитывается около 400, однако еще не создан способ формирования колостомы, который отвечал бы всем необходимым требованиям [93].

С другой стороны, трудно найти хирурга или пациента, который был бы удовлетворен функциональным результатом операции, завершающейся формированием постоянной колостомы на передней брюшной стенке. Зачастую бесконтрольное и нерегулярное выделение кишечного содержимого является непреодолимой преградой для возвращения к привычному образу жизни у четырех из пяти оперированных больных [44, 710, 130]. У молодых, социально-активных пациенток, безусловно, следует стремиться к выполнению реконструктивно-пластических операций.

К настоящему времени разработано более 100 способов оперативного вмешательства при свищах прямой кишки, однако результаты лечения этой патологии нельзя признать удовлетворительными: рецидивы возникают у 20-40%, а недостаточность сфинктера прямой кишки после операции развивается у 6,6-20% женщин [30, 42, 61, 67, 69, 87, 105]. Несмотря на совершенствование оперативной техники и появление современных шовных материалов с улучшенными свойствами, эффективность пластических операций на сегодняшний день при пострадиационных свищах остается низкой. Количество рецидивов в различных клиниках, по данным разных авторов, колеблется от 35 % до 70% [46, 60, 62, 81, 82].

Ряд исследований показывает, что хирургические методы недостаточно эффективны в лечении постлучевых РВС [14, 88, 127]. Осложнения наблюдаются примерно в 65-70% случаев. Промежностные раны, образуемые после операции, часто осложняются постлучевым воспалительно-некротическим процессом.

Дж. Дисаи [28] указывает на то, что в первые 2-3-е суток требуется назначение наркотических анальгетиков. Активация пациента в послеоперационный период происходит на 2-5 сутки. Наблюдаются нагноения колостомы, однако они носят преимущественно поверхностный характер.

Воспаление купируется при помощи местных анестетиков. Иногда наблюдается несостоятельность колостомы за счет краевого некроза и рестрикции кишки в подкожную клетчатку. В 0,5% случаев требуется наложение трансверзостомы. В период 7-18 суток после операции возможны аррозивные кровотечения. Иногда требуется прошивание раны с повторным тампонированием. Известны случаи применения баллона-обтуратора. У некоторых пациентов в качестве осложнения наблюдается нейрогенная дистония мочевого пузыря. В отдельных случаях она требует наложения троакарной эпицистостомы. В остальном, мочеиспускание восстанавливается довольно быстро, либо требуется противовоспалительное лечение у уролога [28].

Таким образом, лечение больных, страдающих ректовагинальными свищами, остается трудной задачей. Учитывая крайне низкую вероятность самопроизвольного зарращения лучевого свища и самоизлечения, высокую частоту рецидивов свищей после хирургического лечения, улучшение результатов реабилитации пациенток может быть связано только с совершенствованием и повышением надежности методик хирургической фистулопластики. За время изучения проблемы было предложено множество доступов для пластики свищей. Трансанальный, перинеальный и влагалищный доступ удобны для коррекции простых ректовагинальных свищей, согласно классификации Ротенбергера Гольдберга [69].

Стоит отметить, что хирургические тактики также несовершенны [29, 99, 135, 136]. Одним из способов улучшения качества оказания хирургического лечения, является совершенствование методик фистулопластики [69, 74, 86,87]. За длительный период существования хирургических тактик лечения постлучевых осложнений, было предложено несколько вариантов хирургических доступов. Наибольшую популярность получили такие доступы, как трансанальный, перинеальный, влагалищный. Каждый из них имеет как свои преимущества, так и свои недостатки. Методика проведения фистулопластики также может быть различной. К примеру, органы можно разобщить, и осуществить их послойное ушивание. Часто применяется метод усечения ректовагинальной перегородки до

свища. Некоторые хирурги осуществляют пластику при помощи полнослойного низведенного лоскута стенки прямой кишки. В некоторых случаях единственной возможностью устранить свищ, является низкая передняя резекция прямой кишки вместе со свищом.

Как показывают исследования, проведенные Э.Г. Семирджанянц [74, 86, 87], в качестве наиболее эффективного метода лечения ректовагинальных свищей, целесообразно рассматривать брюшно-анальную резекцию прямой кишки. Выполнение операций меньшего объема может привести к удовлетворительным результатам только в том случае, если свищ небольшого размера. При небольших размерах свища показаны такие техники, как передняя резекция прямой кишки, резекция передней стенки прямой кишки, колостомия. Также данные виды вмешательства могут быть применены исключительно при отсутствии склеротических изменений, ишемических и некротических нарушений [65,73, 86].

Как показывает анализ литературных данных, при проведении операций по поводу сложных ректовагинальных свищей, к которым и относят и лучевые свищи, целесообразно проводить минимально инвазивное вмешательство. В исследованиях В.Б. Александрова показано, что при этом целесообразно применять влагалищный доступ. При отсутствии условий для проведения операции с применением влагалищного доступа, рекомендуется прибегнуть к абдоминальному доступу [67].

В качестве абсолютных показаний к проведению операции посредством абдоминального доступа, следует рассматривать большие размеры свища, а также сужение просвета в прямой кишке в области расположения свища [59]. В таком случае применяется аугментационная фистулопластика. Широкое распространение получил данный метод в модификации Брикера [114]. Основные принципы хирургического лечения ректовагинальных свищей были заложены более 100 лет назад. Их разработкой занимались исследователи Симсон и Тренделенбург. В последующем их принципы были несколько модернизированы, дополнены.

Д.Э. Елисеев детально проанализировал эти принципы, и выделил 7 основных этапов фистулопластики. Рассмотрим основные принципы фистулопластики (характерной чертой является единство принципов и для мочевых, и для кишечных свищей) [89]:

1. органы, которые образуют свищ необходимо разобщить.
2. рубцы иссекаются в полной мере.
3. полые органы ушиваются по отдельности.
4. не должно быть натяжения органов.
5. линии швов должны быть ориентированы по разным направлениям.
6. сшивание должно быть герметичным.
7. провести дренирование и декомпрессию полости.

Д.Э. Елисеев указывает на то, что в процессе планирования фистулопластики важно не просто проводить операцию правильно, но и осуществлять предварительную подготовку к процедуре. При этом особое внимание должно уделяться оценке состояния мягких тканей в области повреждения и вокруг нее. Ткани в области свищевого рубца всегда подвергаются рубцовым изменениям. При этом наблюдается нарушение кровообращения в результате гиалиноза сосудов. Слизистая оболочка прямой кишки и влагалища резко истончается, поэтому необходимо учитывать это при проведении процедуры, не задевать сосуды. При малейшем прикосновении слизистая оболочка начинает кровоточить. В такой ситуации успешность фистулопластики минимальна. Поэтому необходимо искать новые, альтернативные варианты лечения [89].

Как утверждает О.Б. Лоран [50], типичные стандартные методы фистулопластики недостаточно эффективны. Поэтому хирург должен искать альтернативные варианты, а также быть готовым к нестандартным ситуациям непосредственно во время операции. Успехов удастся достичь при наличии фистул небольшого размера. В практике лечения постлучевых ректовагинальных свищей преобладает мнение о том, что основных принципов проведения пластики свищей в данном случае недостаточно. При лечении постлучевых свищей

необходимо делать «прокладку» между ушиваемыми органами. Это позволит улучшить трофические процессы, усилить кровообращение, а также обеспечить полную васкуляризацию тканей в области свища. Соответственно, повышаются репарационные возможности и восстановительный потенциал поврежденных тканей, в результате чего эпителизация поврежденной ткани происходит намного быстрее. Для достижения указанных целей необходимо использовать лоскуты различной локализации. В основе лоскута может быть мышечная, либо жировая ткань. Также используются фасции. В некоторых случаях лоскуты содержат кожу. При проведении подобных операций важно заранее выбрать донорскую зону, провести планирование размеров лоскута, самой операции. При этом донорская зона выбирается с учетом особенностей кровообращения. Важно правильно определить длину, диаметр, размеры самого кожного лоскута, правильно спланировать его геометрию, определить расположение осевого сосуда. Это обеспечит адекватное кровоснабжение лоскута, что является залогом его хорошего приживления и выступает в качестве профилактики послеоперационных осложнений. В первую очередь, при таком подходе исключается риск развития некроза, отторжения лоскута [50].

В настоящее время описано свыше 300 различных комплексов тканей с осевым кровоснабжением [89]. Нет практически ни одной области человеческого тела, где бы ни брали лоскуты для трансплантации с целью закрытия свищевых отверстий. Учитывая, что ректовагинальный свищ расположен на стыке смежных областей и анатомических зон, для его закрытия используются кожные, жировые, мышечные лоскуты [89]. Также можно применять и сложные лоскуты, такие как паховый, бедренно-промежностный, кожно-мышечно-жировой. Также используются кожно-мышечно-жировой лоскут Martius-Symmonds, лоскуты на основе *m. Gluteus maximus*, лоскуты на основе *m. gracilis*, лоскуты на основе *m. rectus abdominis*, лоскут из большого сальника [89].

Д.Э. Елисеев показал возможность проведения операции через влагалищный доступ, существенно расширяет возможности хирурга. Это позволяет использовать разнообразный пластический материал. К примеру, при

использовании абдоминального доступа возможности выбора пластического материала резко ограничены. В таком случае подходит сальниковый, перитонеальный лоскут и лоскут на основе *m. rectus abdominis*. Весьма перспективными свойствами обладает большой сальник. Лоскуты большого сальника широко используют для лечения генитальных свищей различной локализации и размеров (в процессе оментопластики). Планируя оментопластику, необходимо учитывать, что большой сальник характеризуется вариабельностью размеров. Резко отличается его строение, сосудистая архитектура. Зачастую у многих людей сальник не пригоден для трансплантации, поскольку вовлекается в спаечный, или воспалительный процесс [89].

Также нужно учитывать вероятность того, что сальник может быть редуцирован или удален. Так, хирурги неоднократно сталкивались с ситуацией, когда оказывалось, что сальник был удален. Дело в том, что некоторые хирурги в протоколах операций просто не указывают, что сальник был удален. Характерной чертой является то, что зачастую указанные обстоятельства обнаруживаются только во время операции при проведении ревизии брюшной полости и большого сальника [89].

Так, исследования, проведенные M. Strioga, S. Viswanathan, A. Darinskas [132], показывают, что из 40 пациенток, которым планировали проведение лапароскопической оментопластики, возможность ее выполнения сохранялась только у 38 человек. У 2 пациенток были выявлены обстоятельства, затрудняющие оментопластику, причем выявлены они были интраоперационно [132].

Широко используются мышечно-жировые лоскуты *Martius* и кожно-мышечно-жировые лоскуты *Martius-Symmonds*. Сообщается об использовании лоскута на основе жировой ткани половой губы и поверхности мышц урогенитальной диафрагмы (луковично-губчатая и седалищно-пещеристая мышца). Эти лоскуты нашли широкое применение при пластике уретровагинальных свищей. Также известно о применении модифицированного лоскута *Martius*. Он был превращен в сложный осевой островковый кожно-

мышечно-жировой лоскут путем добавления кожного компонента. Осевые органы лоскута представляют собой ветви внутренней и наружной половых артерий, которые соединены между собой посредством анастомоза в центре лоскута. В качестве преимуществ указанных лоскутов можно привести следующие [89]:

1. длина лоскута позволяет достичь влагалищных сводов;
2. при помощи двух изолированных источников кровоснабжения можно сформировать лоскут как на вентральной, так и на дорсальной ножке;
3. после забора кожного лоскута значимых анатомических, функциональных и косметических дефектов донорской зоны не возникает [90].

Стоит отметить преимущества лоскута Martius-Symmonds. При помощи одной кожной порции лоскута можно закрыть дефект стенки влагалища в виде заплатки. Это особенно важно при дефиците и ригидности влагалищной стенки, к примеру, при таком диагнозе, как лучевой стеноз влагалища. Нет необходимости в сведении швами краев стенки влагалища, в результате чего существенно снижается риск развития ишемии, некроза в зоне операционного вмешательства [127].

В соответствии с литературными данными, эффективность применения кожных лоскутов Martius при лечении ректовагинальных свищей составляет 60 - 100% [61, 70, 73, 83, 86, 92, 95, 101, 133, 134].

A.M. Paik, I.C. Норре, C.J. Pastor [127] позволяют заключить, что при проведении трансплантации кожного лоскута через трансвагинальный доступ, не требуется специального мастерства хирурга. Также не возникает потребности в применении хорошего инструментального и технического оборудования. В процессе операции используются удобные и эргономичные инструменты, что существенно сокращает время проведения операции, а также минимизирует травматизацию тканей [127].

Стоит отметить, успех операции во многом определяется качеством шовного материала, который используется в процессе проведения операции. В течении многих лет широко использовался кетгут – рассасывающийся материал. С появлением синтетических рассасывающихся материалов, они стали

незаменимыми компонентами при проведении фистулопластики. Широко используются монокрил, викрил [8]. Они создаются на основе полимеров гликолевой кислоты. Характерными признаками таких нитей является то, что они созданы на основе полимеров гликолевой кислоты. Основными свойствами данных нитей является прочность, короткие сроки рассасывания, гипоаллергенность, низкий пилящий эффект. Рассасывание происходит за счет гидролиза. Можно утверждать, что указанные нити являются идеальным материалом для проведения реконструктивных операций. При проведении пластических операций по реконструированию и закрытию влагалищных дефектов, это дает возможность точно, и более прочно наложить шов на дефект стенки мочевого пузыря. Соответственно, ткани будут более адаптированными, заживление произойдет намного быстрее. Это обретает особую значимость при выполнении повторных операций, при которых стенки влагалища и мочевого пузыря уже подвержены рубцовым изменениям. Все сказанное в отношении мочеполовых свищей, в равной мере относится и к ректовагинальным свищам [15].

Стоит отметить, что эффективность закрытия свищей во многом зависит даже от формы и размера иглы, используемой в процессе операции. Для наложения швов в глубине влагалища, широко используются иглы 3/8 и 5/8 окружности.

При пластике ректовагинальных свищей необходима тщательная предоперационная подготовка, которая является залогом успешного проведения операции. Это обусловлено тем, что зачастую ректовагинальные свищи сопровождаются интенсивным рубцовым процессом, инфильтрацией и воспалительными процессами. В связи с этим часто возникает необходимость в постановке превентивной колостомы. Вопрос о целесообразности ее постановки решается строго индивидуально. Так, в соответствии с литературными данными, при помощи превентивной колостомы можно существенно снизить частоту послеоперационных осложнений, в особенности у пациентов со сложными и высокими ректовагинальными свищами [23, 59, 60, 78, 90].

В большинстве случаев, пациентам требуется предварительная колостомия в связи с тем, что происходит постоянное выделение газа и кала из влагалища. Этот процесс не поддается сознательному контролю, поэтому не позволяет адекватно подготовить окружающие ткани к предстоящему операционному вмешательству. Прежде всего, следует говорить о невозможности соблюдения правил асептики и антисептики. Необходимо отметить, что от момента проведения колостомии до фистулопластики должно пройти не менее двух месяцев.

Чаще всего при подготовке к фистулопластике используется двуствольная петлевая колостомия. Одноствольная колостомия применяется для исключения возможности заброса кишечного содержимого, или выхода кишечной микрофлоры в отводящий отдел [118,125]. Также предоперационная подготовка подразумевает удаление инородных тел, устранение лигатур, вторичных лигатурных камней из влагалища. Для этого применяют промывание влагалища и прямой кишки антисептиками, во влагалище вводятся мазевые тампоны, проводится местная заместительная гормонотерапия, промежность и бедра обрабатываются антисептическими препаратами [90].

При планировании лоскутной фистулопластики РВС часто прибегают к проведению электроэпиляции донорской зоны с целью уменьшения роста волос во влагалище в дальнейшем. Период предоперационной подготовки строго индивидуален и зависит от скорости купирования воспалительного процесса, а также от формирования рубцового процесса в области свища. Обычно сроки фистулопластики составляют 3-6 месяцев после формирования травматического рубца, и 6-12 месяцев после формирования лучевого рубца. В более рани сроки проводить процедуру фистулопластики не рекомендуется, поскольку возможен рецидив [99, 117].

Сложности хирургического лечения состоят также в том, что не менее важно не только подготовительный процесс, и собственно проведение операции, но и правильное ведение послеоперационного периода. Так, в послеоперационный период первостепенную значимость обретает соблюдение

правил асептики и антисептики, своевременное проведение антибактериальной терапии (чаще всего применяется пролонгированная терапия). Также нужно учитывать, что необходима ранняя активация больных после операции, что способствует адекватному функционированию сердечно-сосудистой системы, активации дыхательной, выделительной систем. Также это является мерой профилактики бронхолегочных и тромбоэмболических процессов. Также стоит отметить, что не возникает необходимости ограничивать пациентов в приеме пищи или жидкости, особенно если учесть наличие колостомы [41].

Несмотря на наличие различных методик и технологий проведения операций, фистулопластики, все же хирургический метод не является в полной мере обоснованным и эффективным методом лечения ректовагинальных свищей, особенно, если речь идет о свищах, полученных в качестве осложнения лучевой терапии [115]. Это обусловлено тем, что при проведении операции возникают крайне неблагоприятная ситуация для заживления послеоперационной раны. Во-первых, при лучевых лучах происходит изменение основных свойств ткани. Изменяются биохимические, иммунологические показатели, репарационные способности. Во-вторых, нужно учитывать, что лучевые свищи сопровождаются глубоким нарушением трофики и кровообращения в облученных тканях, что вызывает сложности заживления и приживления кожного лоскута, может стать причиной отторжения, развития инфильтрационных и воспалительных процессов. Также обращает на себя внимание тот факт, что проведение хирургических и пластических операций часто затруднено в связи с постоянным воздействием кала, мочи и газов, которые выделяются самопроизвольно. Так, при применении хирургических и пластических техник, частота возникновения рецидивов колеблется в пределах от 15 до 70%. Все это указывает на необходимость поиска альтернативных путей лечения [26].

При хирургическом лечении ректовагинальных свищей, широко используются следующие техники:

- техника мобилизации прямой кишки
- техника передней резекции прямой кишки

- техника выполнения брюшно-анальной резекции
- техника формирования забрюшинной колостомы.

Анализ частоты послеоперационных осложнений показывает, что преобладают такие осложнения, как несостоятельность швов, некроз низведенной кишки, абсцессы малого таза и межкишечные, нагноение послеоперационной раны (гнойно-некротические осложнения). Наблюдаются также хирургические осложнения, такие как: тонкокишечная непроходимость, внутрибрюшное кровотечение, эвентрация. Возможны функциональные осложнения, такие как недержание мочи, кала. Причины развития гнойно-воспалительных послеоперационных осложнений у больных со свищами весьма многообразны. Прежде всего, это воспалительный процесс в малом тазу, купировать который, несмотря на интенсивную предоперационную подготовку, удается не всегда. Вскрытие полых органов может являться источником патогенной флоры, продолжительность операции, сильная травматизация тканей, неизбежная при фиброзе малого таза, хронические патологии также способствуют инфицированию операционного поля. Обширные раневые поверхности и неспадающиеся полости, гематомы в свободных пространствах создают субстрат для развития патогенной микрофлоры в раннем послеоперационном периоде [73].

В целом, результаты лечения больных со сложными, в том числе постлучевыми, свищами пока не столь оптимистичны. Многие больные переносят не одну фистулопластику, не приносящую результата. Другим больным просто отказывают в операции, считая их инкурабельными. Объективный взгляд врача, ориентирующегося в гинекологии и хирургии, индивидуальный подход к каждой пациентке, использование эффективных методик фистулопластики позволят эффективно реабилитировать эту непростую категорию пациенток [26].

Анализ литературных источников указывает на то, что лечение постлучевых повреждений прямой кишки весьма сложно и многогранно, и зависит от типа патологии. Так, для лечения проктитов и язв, применяют консервативные методы (медикаментозная, симптоматическая терапия). При их неэффективности прибегают к хирургическому лечению. Особенно тяжело поддаются заживлению

ректовагинальные свищи. Консервативные методы в основном неэффективны. Основным методом их лечения является хирургический метод. Однако хирургические методы требуют совершенствования. Актуальным остается поиск новых, альтернативных методов лечения, поскольку хирургические методы сопровождаются высоким риском развития рецидивов, многочисленными осложнениями.

Таким образом, традиционным методом лечения постлучевых повреждений прямой кишки, является медикаментозная терапия, суть которой сводится, прежде всего, к применению противовоспалительных средств, направленных на купирование воспалительного процесса и снижение инфильтрационных процессов в области пораженного участка.

В тяжелых случаях, при неэффективности традиционного лечения, применяются хирургические методы. К настоящему времени разработано более 100 способов оперативного вмешательства при свищах прямой кишки, однако результаты лечения этой патологии нельзя признать удовлетворительными: рецидивы возникают у 20-40%, а недостаточность сфинктера прямой кишки после операции развивается у 6,6-20% женщин. Актуальным остается поиск альтернативных путей лечения [101].

1.3. Анализ основных показателей стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани и возможности ее применения при лечении поздних лучевых повреждений прямой кишки

За последнее десятилетие значительное развитие получило изучение механизмов регенерации различных органов и тканей с использованием клеточных технологий, возросло количество исследований по использованию стволовых клеток в лечении пациентов. Признано, что клеточная терапия имеет огромный потенциал и может применяться в регенеративной медицине, в

частности, при лечении повреждений прямой кишки. Об этом говорится в многочисленных отечественных [13, 16, 20, 21, 84] и зарубежных исследованиях [99,106, 114, 118, 134].

P. Perrot, J. Rousseau, A.L. Bouffaut [131] отмечают, что в основе клеточных технологий, применяемых в регенераторной медицине, лежит применение стволовых клеток. Исследования в области регенеративной медицины показали, что применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) оказывает выраженный терапевтический и регенеративный эффект при лечении различных дегенеративно-дистрофических заболеваний. При этом основным, традиционным и наиболее изученным источником ММСК, является костный мозг. Множество работ *in vitro* и доклинических исследований на животных показали высокую безопасность и эффективность ММСК в лечении острых артритов, посттравматических повреждений суставного хряща и других заболеваний опорно-двигательного аппарата. Позже было показано, что ММСК могут применяться и для регенерации мягких тканей. Причем ни у одного из пациентов в течение более чем двухлетнего периода наблюдения не было зарегистрировано нежелательных явлений или реакций (в том числе неопластических процессов) [131].

Исследования P.A. Zuk [111] с соавторами показали, что ММСК могут быть получены не только из костного мозга, но и из жировой ткани (ММСКжт) [101]. Несмотря на то, что ММСКкм и ММСКжт имеют одинаковый иммунофенотип и способность к дифференцировке, существует ряд отличий в свойствах клеток в силу их различной анатомической локализации и выполняемых в организме функций. В частности, ММСКжт генетически более стабильны в долгосрочном периоде наблюдений, обладают более низким коэффициентом старения и имеют высокий пролиферативный потенциал [75].

ММСКкм составляют лишь 0,001–0,01% всех ядродержащих клеток в костном мозге, в то время как из эквивалентного объема жировой ткани можно получить в 1000 раз больше ММСКжт. Жировая ткань может быть получена посредством стандартной процедуры липосакции под местной анестезией.

Концентрация ММСКжт в липоаспирате составляет около 4% от всего числа ядродержащих клеток (эндотелиальные клетки, перициты, фибробласты, макрофаги, Т-лимфоциты и гладкомышечные клетки) [75].

Совокупность всех ядродержащих клеток, которые могут быть выделены из жировой ткани при помощи ферментативного расщепления, носят название стромально-васкулярной фракции (СВФ). СВФ оказывает противовоспалительный, иммуномодулирующий, антисептический эффекты, а ММСКжт, также, как и ММСКкм, способны к дифференцировке в другие типы клеток мезодермального происхождения (хрящевая ткань, сухожилия, связки). СВФ относится к клеточным продуктам, не требующим культивирования, то есть забор биологического материала, его обработка, получение СВФ и ее клиническое применение возможны в рамках одного хирургического вмешательства [75].

Таким образом, СВФ по сравнению с ММСК является более привлекательным клеточным продуктом для клинического применения, в том числе благодаря отсутствию факторов риска, связанных с длительным культивированием (контаминация, генетическая трансформация, спонтанная дифференцировка). Также в связи с синергическим действием различных типов клеток, входящих в состав СВФ, терапевтический эффект при лечении дегенеративно-дистрофических заболеваний развивается раньше и является более выраженным. СВФ используется в ветеринарной медицине с 2003 года. Проведенные рандомизированные двойные слепые многоцентровые контролируемые исследования на собаках крупных пород с ОА показали выраженное снижение боли, хромоты и улучшение функции сустава при введении СВФ в пораженный сустав. Подобные эффекты были описаны при лечении патологии суставов, хрящей, сухожилий и связок у других видов животных [75].

В большинстве случаев жировая ткань, применяемая для выделения стволовых клеток, забирается при помощи резекции липодермальных лоскутов кожи, либо методом липосакции (ЛС) [117, 124, 131]. Ряд исследователей (Шелыгин Ю.А., Бирюков О.М., Титов А.Ю.) приходят к выводу о том, что липосакцию следует рассматривать как хирургическое вмешательство, тем не

менее, это наиболее безопасный метод забора, позволяющий получать регенеративные клетки, обладающие высокой клеточной жизнеспособностью. Кроме того, это наименее травматичный метод, при котором не возникает потребности в длительном реабилитационном периоде, специальных восстановительных процедурах. Риск осложнений также минимален. Стоит отметить, что в настоящее время есть ряд технических приемов, которые позволяют максимально облегчить выполнение процедуры. При этом широко применяется современное оборудование, к примеру, ультразвуковое, лазерное оборудование [64].

С.А. Плаксин указывает на то, что наиболее распространенным вариантом проведения липосакции с целью забора жировой ткани, остается классическая туменесцентная липосакция. В процессе проведения этой процедуры осуществляется инфильтрация жировой ткани в донорской зоне. Для этого используется стерильный физиологический раствор. В раствор дополнительно добавляют местный анестетик и адреналин в небольших количествах. От методики проведения липосакции во многом зависит численность клеток (клеточность), клеточная жизнеспособность. К примеру, при заборе донорского материала посредством классической липосакции, существенно повышается уровень отрицательного давления в аспираторе. Это может негативно отразиться на количестве выделяемых полипотентных клеток. После забора и обработки жировой ткани, получают стромально-васкулярную фракцию (СВФ), которая и используется для дальнейшего лечения. Стромально-васкулярная фракция (СВФ) жировой ткани находит широкое применение в различных областях медицины, и в первую очередь, в регенераторной медицине [61].

Комплексное изучение биологических свойств и культуральных характеристик мультипотентных клеток, выделенных из жировой ткани, было впервые произведено в 2001 году под руководством Р.А. Zuk [123]. Так, он провел комплексный анализ мультипотентных клеток, выделенных из аутологичной жировой ткани (АЖК). После этого исследования проводились дальнейшие многочисленные исследования и эксперименты, направленные на повышение

безопасности забора аутологичной жировой ткани (жировой ткани, полученной из клеток собственного организма). Таким образом, собственная жировая ткань может использоваться в качестве донорской зоны для трансплантации в нужные участки тела. Также с тех пор велись многочисленные разработки, направленные на поиск новых, более эффективных способов получения и культивирования ткани. Был существенно оптимизирован технологический процесс, позволяющий изолировать и культивировать ткани из нестволовых клеток [123].

В исследованиях А.А. Айзенштадт [37] было показано, что ММСК, выделенные из костного мозга и из жировой ткани имеют одинаковый иммунофенотип. Также было показано, что они имеют одинаковую способность к дифференцировке. Однако, определенные отличия все же существуют [37].

И.С. Алексеева отмечает, что отличия обусловлены, в первую очередь, различной анатомической локализацией, а также выполняемыми функциями. При проведении долгосрочных наблюдений, было установлено, что ММСК, выделенные из костного мозга более стабильны. Также они обладают более низким коэффициентом старений, характеризуются более высоким пролиферативным потенциалом [1].

При проведении сравнительного анализа ММСК, полученных из костного мозга и ММСК, полученных из жировой ткани, Т.А. Астрелиной, было показано, что они не имеют существенных отличий ни по морфологическим показателям, ни по иммунному фенотипу, ни по способности к дифференцировке. Тем не менее, клетки жировой ткани более доступны для выделения [4].

А.И. Зорина [31,32,33] указывает на то, что существуют некоторые отличия и в количественных характеристиках. Так, ММСК костного мозга составляют только 0,001–0,01% всех ядродержащих клеток в костном мозге. В том же объеме жировой ткани находится примерно в 1000 раз больше ММСК. Клетки из жировой ткани получить намного проще. Они могут быть получены в процессе липосакции. При этом применяется местная анестезия. В липоаспирате, полученном при липосакции, концентрация ММСК составляет примерно 4% от общего количества ядродержащих клеток. Сюда входят эндотелиальные клетки,

перипиты, фибробласты, макрофаги, Т-лимфоциты и гладкомышечные клетки. Совокупность всех ядродержащих клеток, выделенных из жировой ткани путем ферментативного расщепления, получила название СВФ – стромально-васкулярная фракция.

При исследовании свойств СВФ, было показано, что она оказывает противовоспалительное, иммуномодулирующее, антисептическое воздействие на организм. ММСК, выделенные из жировой ткани, также, как и аналогичные клетки, выделенные из костного мозга, способны к дифференцировке в различные типы клеток мезодермального происхождения [38, 30, 31, 32, 33, 102, 136]. Это позволяет широко использовать эти клетки для лечения и восстановления повреждений мягких тканей, суставов, связок, хрящей. СВФ относится к числу продуктов, не требующих культивирования. Необходимость культивирования клеток зачастую ограничивает возможность их применения, поскольку трансформация клеток существенно меняет их функциональные и биологические свойства [110]. Кроме того, отсутствие необходимости культивировать клетки, означает, что в рамках одного хирургического вмешательства может быть произведен забор биологического материала, его обработка, получение готовой СВФ, а также непосредственное клиническое применение [131].

Все это позволяет заключить, что СВФ является более привлекательным продуктом клеточного происхождения по сравнению с ММСК и обладает более широкими возможностями для клинического применения. Преимущество состоит в отсутствии факторов риска, обусловленных длительным культивированием [91, 99, 107, 118, 121, 125, 129].

Отсутствие длительного культивирования предотвращает риск возникновения таких неблагоприятных явлений, как контаминация клеточного материала патогенной микрофлорой, генетическая трансформация, спонтанная дифференцировка клеток [85, 102, 120, 132]. Тем не менее, в некоторых исследованиях, например, в исследованиях Н.С. Романенкова, К.Н. Мовчан [71], описаны некоторые негативные эффекты трансплантации аутологичной жировой ткани, обогащенной культурой стволовых клеток

При анализе СВФ, выделенной из жировой ткани, была показана возможность экспрессии маркеров мезенхимальных стволовых клеток CD44, CD73, CD90 [70,72].

Также стоит отметить возникновение синергического эффекта при взаимодействии с различными типами клеток, что усиливает терапевтический эффект. Многочисленные исследования указывают на существенное снижение болевого синдрома, повышение качества жизни пациентов, получавших лечение СВФ при различных повреждениях. Отмечается достоверно значимое улучшение психологического компонента здоровья, отмечается тенденция к его дальнейшему улучшению [66,73, 98, 100, 104].

Все это позволяет рассматривать жировую ткань как перспективный альтернативный источник стволовых клеток. В исследованиях Ю.А. Шельгина [64] показано, что основное преимущество состоит в безопасности и простоте забора ткани. В связи с этим, в последние годы все большую популярность приобретает аутотрансплантация жировой ткани. Впервые возможность использования собственного жира в различных целях, была описана в 1893 G. Nueber в 1893 г. еще тогда были заложены основы современной клеточной терапии. Дальнейший опыт использования аутогенного жира связан с трудами E. Hollander (1912) и H. Neuhof (1923). Однако, результаты, полученные в то время, носили случайный характер, и не были долгосрочными [64].

Стоит отметить, что поиск и разработка новых технологий получения и применения аутологичной жировой ткани ведется давно, однако до сих пор не выработано единого мнения относительно оптимального способа забора ткани, относительно наиболее эффективного метода и технологического процесса получения стволовых (регенеративных) клеток из жировой ткани. При этом большинство технологий получения аутологичных клеток жировой ткани основано на применении мануального (ручного) метода. В основе методов выделения и обработки клеток лежит процесс ферментирования липоаспирата (ЛА).

Выделение СВФ осуществляется двумя способами: ферментативным и неферментативным. Оба метода подразумевают разрушение жировой ткани и дальнейшее ее центрифугирование с целью удаления зрелых адипоцитов, эритроцитов, других элементов и получения чистой СВФ [34].

Клетки СВФ содержат ММСК, эндотелиальные прогениторные клетки, M2, поляризованные макрофаги, Т-лимфоциты. Эти элементы выступают в качестве основного источника регенерации и способствуют быстрому закрытию дефекта. В связи с тем, что клетки являются аутологичными, существенно снижается риск иммунологического отторжения. Образуется фибриновый клей, который создает благоприятные условия для прикрепления, выживания и дифференцировки клеток. Также фибриновый клей предотвращает спонтанную миграцию клеток [35].

Таким образом, применение в лечебных целях СВФ, выделенной из жировой ткани, позволяет решить ряд проблем. Успешное приживление аутологичного трансплантата возможно при условии соблюдения некоторых критериев. Комитетом Международного общества клеточной терапии было установлено, что клетки могут быть признаны мультипотентными мезенхимальными стволовыми клетками только в том случае, если они соответствуют следующим критериям [цит. по 43]:

1. При культивировании в стандартных условиях, клетки проявляют адгезивные свойства по отношению к пластику;
2. Наблюдается экспрессия специфических поверхностных антигенов;
3. Клетки способны дифференцироваться в остеобласты, хондробласты, миоциты и адипоциты, и другие клеточные элементы.
4. Проявляют адгезивность к пластику при *in vitro*.

О.В. Князев показывает, что целенаправленные исследования СВФ, возможностей ее применения в составе клеточной терапии для лечения язвенных, свищевых дефектов, повреждений кожи и мягких тканей, ведутся многие годы. Тем не менее, до сих пор не разработано ни единого стандартизированного метода, который позволил бы с максимально высокой точностью и

эффективностью получать биологический материал, производить его обработку [44].

Традиционно в большинстве случаев применяется ферментативная обработка биологического материала ручным методом. Важным условием является строгое соблюдение стерильности, поскольку зараженная ткань не доступна для применения. В настоящее время появилась возможность применения аппаратных методов. Тем не менее, во многих лечебных заведениях, до сих пор стандартным методом получения СВФ по-прежнему остается ручной метод. Это обусловлено тем, что аппаратные методы приводят к высокой степени травматизации ткани, существенно снижают жизнеспособность клеток. Среди исследователей, занимающихся поиском наиболее эффективного метода и технологии получения СВФ единого мнения до сих пор нет.

Тем не менее, ряд исследователей [45, 52, 55, 77] сходятся на том, что метод, основанный на применении СВФ, эффективен, безопасен. В первую очередь обращает на себя внимание иммунологическая и онкогенная безопасность. Также для метода характерна малая инвазивность. Метод не требует существенных материальных затрат.

В остальном, в научной литературе представлено недостаточно сведений, касающихся комплексного исследования перспектив применения СВФ в лечении тканевых повреждений. Недостаточно сведений, касающихся оценки долгосрочной безопасности СВФ. Статистически достоверные данные представлены в нескольких десятках научных публикаций [39, 54, 68, 75, 91, 103]. Удельный вес таких публикаций составляет 10-20% от общего числа работ на данную тематику.

Не исключено, что дальнейшие поиски технологий выделения стволовых клеток из жировой ткани, необходимо вести в направлении создания таких условий, при которых будет формироваться замкнутый круг, в рамках которого будет осуществляться стерильный и безопасный процесс изоляции мезенхимальных клеточных структур. Стоит заметить, что существует большое количество методов сепарации клеток, и каждый из них имеет как свои

преимущества, так и свои недостатки. Жировая ткань является одним из наиболее удобных и богатых источников клеточного материала для регенеративной медицины. Это обусловлено высоким содержанием прогениторных клеток. Их количество многократно превышает аналогичные показатели в костном мозге, и других тканях. СВФ содержит различные популяции стволовых клеток-предшественниц, которые в дальнейшем могут быть выделены ферментативным методом, и могут использоваться в различных лечебных целях. Тем не менее, характеристика клеточного состава до сих пор остается неизученной, не выяснен до конца терапевтический потенциал данных клеток. Стоит отметить, что единых стандартизированных протоколов выделения и оценки клеточных фракций до сих пор не существует [66].

В последние десять лет были разработаны различные экспериментальные модели для применения стволовых клеток в регенерации органов и тканей. Проведенные исследования позволяют сформулировать вывод о том, что в основе восстановительного потенциала регенераторных клеток лежит способность к направленной дифференцировке, а также реализация паракринных механизмов. Особый интерес с данной точки зрения представляет СВФ, поскольку она является минимально-манипулированной фракцией, в состав которой входят как зрелые, так и стволовые клетки [73].

Благодаря развитию современных протеомных и биоаналитических технологий, есть возможность углубленного изучения секретома и дифференцировочного потенциала данных структур [65]. Однако окончательный вывод относительно из клинической эффективности, кратковременных и отдаленных последствий, до сих пор не сформулирован. Кроме того, провести реальную оценку возможностей, клинического и регенераторного потенциала, безопасности СВФ невозможно в связи с отсутствием стандартизированных протоколов выделения, изоляции клеточного материала, культивирования, предварительной дифференцировки клеток [74].

С целью усиления эффектов СВФ некоторые авторы (Гладкова Е.В., Карякина Е.В., Мамонова И.А., Федонников А.С., Бабушкина И.В., Норкин И.А.,

Пучиньян Д.М.), дополняют клетки СВФ различными факторами. Например, Вui и соавт использовали клетки СВФ в комбинации с аутологичной плазмой, обогащенной тромбоцитами (platelet-rich plasma, PRP). Авторы сообщили о двух основных позитивных эффектах – снижении боли через 3-6 мес. и стимуляции роста ткани. При этом оба эти эффекта приписываются PRP, поскольку, во-первых, PRP подавляет NF-κB каскад, активированный в поврежденных тканях и, во-вторых, PRP подавляет продукцию VEGF стромальными/стволовыми клетками жировой ткани, который является ингибитором регенерации [22].

В литературе имеются также данные многоцентрового нерандомизированного клинического исследования, в которое были рекрутированы 1128 пациентов с повреждением мягких тканей [54]. Согласно представленным данным, лечение с использованием аутологичной СВФ жировой ткани приводило к значительному клиническому улучшению у подавляющего числа больных. Более того, при длительном – до 4,5 лет – наблюдении за пациентами ни в одном из случаев не были зарегистрированы такие тяжелые нежелательные последствия или побочные эффекты, связанные с лечением, как инфекционные осложнения, онкологические или аутоиммунные заболевания [63].

Интересно, что терапевтический эффект клеток СВФ не ограничивается позитивными изменениями в таргетном органе, но является более широким. Так, в исследовании Bright было обнаружено, что внутривенное введение СВФ пациентам сопровождалось неожиданным снижением частоты и интенсивности мигренозных приступов [4]. Авторы предполагают, что этот эффект связан с противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью МСК и М-макрофагов.

Определенный интерес представляют исследования Е.Я. Шевелы [91]. В работе представлены результаты клинической апробации аутологичных клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ) у пациентов с деформирующим остеоартрозом коленных суставов II-III стадии по Kellgren–Lawrence. Внутрисуставное введение клеток СВФ не вызывало развития аллергических, токсических или воспалительных реакций. Анкетирование пациентов через 1 мес.

после введения клеток СВФ выявило снижение выраженности болевого синдрома, оцениваемого по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) и специализированной 100-балльной шкале KOOS (подшкала «Боль») ($p < 0,05$ по обоим шкалам). Более того, пациенты отметили улучшение функциональной активности суставов и качества жизни, связанного с пораженными суставами по шкале KOOS ($p < 0,05$). Положительная клиническая динамика сохранялась при наблюдении до 6 мес [91].

Детальное исследование свойств СВФ было проведено И.Г. Березняковым, И.В. Корж. Проведенное пилотное исследование показало безопасность и хорошую переносимость внутрисуставного введения аутологичных клеток СВФ. Полученные результаты свидетельствуют также о значительном противовоспалительном эффекте аутологичных клеток СВФ жировой ткани, проявляющемся на ранних этапах клеточной терапии. Признаки воспаления наблюдаются как на ранних, так и на поздних стадиях повреждения. При этом воспаление сопровождается повышением уровня провоспалительных медиаторов, включая цитокины (TNF, IL-12, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, LIF, IL-8), оксид азота, ПГЕ₂, и ассоциируется с повреждением прилегающей хрящевой ткани [11].

Одним из основных преимуществ СВФ по сравнению с «чистыми» популяциями стволовых/стромальных клеток, полученных в результате культивирования *in vitro*, является гетерогенность этой фракции. Действительно, наряду с МСК, в образцах СВФ присутствуют различные типы клеток, оказывающих стимулирующий эффект на процессы регенерации и ревазуляризации и обладающих противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами (преадипоциты, предшественники эндотелиальных клеток, макрофаги второго типа и Т-регуляторные клетки).

Согласно критериям, разработанным International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) и International Society for Cellular Therapy (ISCT), клетки СВФ должны иметь жизнеспособность не ниже 70% и экспрессировать следующий иммунофенотип: CD13+, CD29+, CD44+, CD73+, CD90+ (> 40%), CD34+ (> 20%), CD31+ (< 20%) и CD45+ (< 50%) [11].

Е.Я. Шевела показала, что МСК, прогениторные эндотелиальные и периваскулярные клетки стимулируют неоваскуляризацию путем дифференцировки в клетки внутренней выстилки и стенки микрососудов. Установлена секреция клетками СВФ-ЖТ основных ангиогенных факторов – фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), фактора роста фибробластов (FGF). В условиях гипоксии уровень экспрессии и секреции этих факторов увеличивается в 2–5 раз. В нескольких работах показана возможность сборки эндотелиальных клеток СВФ-ЖТ в зачаточную сосудистую сеть [91].

В исследованиях В.П. Гаврилюк, А.И.Конопля [18], показано, что трансплантация СВФ-ЖТ уменьшает экспрессию иммунокомпетентными клетками провоспалительных факторов – фактора некроза опухоли (TNF- α) и интерлейкина-6 (IL-6) [18].

В ряде работ показано, что СВФ-ЖТ не снижает общее количество иммунных клеток в микроокружении, но увеличивает долю противовоспалительных M2-макрофагов. M2-макрофаги, как известно, участвуют в удалении нежизнеспособных клеток, координируют процессы ремоделинга резорбируемого скаффолда тканеинженерной конструкции [103, 107, 128, 135].

Дифференцировочный эффект показан при выполнении трансплантации СВФ-ЖТ, содержащей помеченные клетки. В исследовании D. Christoforidis, [135] экспрессирующие зеленый флуоресцентный белок клетки СВФ-ЖТ смешивали с жировой тканью и имплантировали мышам иммунодефицитной линии. Иммунофлуоресцентный анализ прижившегося липографта выявил дифференцировку клеток СВФ-ЖТ в адипоциты, а также инкорпорацию части клеток СВФ-ЖТ в новообразованные кровеносные сосуды [135].

Получены положительные результаты применения СВФ-ЖТ при трофических и длительно незаживающих ранах, постлучевых ректовагинальных свищах [36,39, 46], болезни Крона [128], остеоартрозах [75], контурных деформациях мягких тканей лица и тела [103], дефектах периферических нервов [127], стриктуре уретры [129]. Имеются единичные наблюдения применения

культуры ММСК-ЖТ и свежевыделенной СВФ-ЖТ в хирургии опорных тканей челюстно-лицевой области.

Отсутствие стадии размножения клеток вне организма человека является значительным преимуществом СВФ-ЖТ, так как при этом нет потери времени на лабораторный этап в специальных условиях стандарта GMP (good manufacturing practice), исключается вероятность контаминации материала органическими и неорганическими компонентами питательных сред, нет риска трансформации клонированных клеток. ММСК-ЖТ после первого пассажа имеют сниженный уровень экспрессии антигенов гистосовместимости, поэтому могут применяться как для аутогенной, так и для аллогенной трансплантации. СВФ-ЖТ, вследствие присутствия разных типов клеток, способных вызывать иммунологические реакции, подходит только для аутологичного применения.

СВФ-ЖТ присуща вариабельность клеточного состава в зависимости от возраста донора, массы тела и области забора жировой ткани. Условия культивирования, плотность посева и состав среды могут влиять на степень пролиферации и дифференцировки ММСК-ЖТ.

В ряде работ проведена сравнительная оценка терапевтического потенциала свежевыделенной СВФ-ЖТ и культивированных ММСК-ЖТ. В исследованиях Л.Я. Федонюк и соавт. [85], показано, что клетки СВФ-ЖТ выделяют более широкий спектр растворимых белков, включая:

- макрофагальные воспалительные белки -1α и -1β (MIP- 1α , -1β);
- гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF);
- хемокин макрофагов (MDC);
- интерлейкины -6, -7, -8, -12p40 (IL-6, -7, -8, -12p40);
- моноцитарные хемоаттрактантные белки -1 и -3 (MCP-1, -3);
- интерферон-индуцируемый белок (IP-10);
- фактор роста эндотелия сосудов (VEGF);
- фактор роста фибробластов -2 (FGF-2);
- тромбоцитарный фактор роста ВВ (PDGF-BB);

- гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF);
- фактор некроза опухоли - α (TNF- α);
- RANTES (RANTES); – антагонист к рецептору интерлейкина-1 (IL-1ra);
- FMS-like tyrosine kinase 3 ligand (FLT3L);
- growth-related oncogene (GRO) [84].

При идентичных условиях уровень содержания 11 из 20 тестируемых факторов был статистически значимо выше в среде культивирования СВФ-ЖТ по сравнению с ММСК-ЖТ. Некоторые факторы секретировались только СВФ-ЖТ. По мнению авторов исследования, СВФ-ЖТ является более мультифункциональным ресурсом для клеточной терапии, чем культура ММСК-ЖТ. Секретируемые клетками СВФ-ЖТ факторы могут обеспечивать разнообразные клинически полезные паракринные эффекты, такие как иммуномодуляция, антиапоптоз, ангиогенез, способствовать хемотаксису, пролиферации и дифференцировке местных стволовых и прогениторных клеток.

Проведена сравнительная оценка потенциала СВФ-ЖТ и культуры ММСК-ЖТ для создания васкуляризованной тканеинженерной конструкции. Результаты исследований показали, что клетки СВФ-ЖТ способны в равной степени выполнять те же функции, что и культура ММСК-ЖТ. Иммуномодуляторный и противовоспалительный эффекты СВФ-ЖТ и ММСК-ЖТ сопоставлены в экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелита.

Выявлена индукция регуляторных Т-клеток с уменьшением воспалительной реакции в тканях ЦНС после введения обоих клеточных препаратов. В селезенке экспериментальных животных выявлены пониженные уровни активности Т-хелперов и повышенные уровни противовоспалительного интерлейкина-10. Клетки СВФ-ЖТ оказывали более выраженные эффекты, чем ММСК-ЖТ. Анализ данных литературы показывает, что оба рассматриваемых ресурса имеют сходные регенераторные свойства, но, в отличие от ММСК-ЖТ, СВФ-ЖТ может быть получена быстрее и с минимальным контактом с реагентами, поэтому является

относительно безопаснее и регулируется меньшим числом законодательных актов [85].

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о безопасности и хорошей аутологичных клеток СВФ жировой ткани у пациентов. Данный подход можно рассматривать как один из методов, предупреждающих дальнейшую прогрессию заболевания, а в случае тяжелых повреждений подобная терапия может помочь уменьшить боль и другие проявления патологического процесса и облегчить тем самым пациенту период до оперативного вмешательства. Однако для проверки этих предположений необходимы дальнейшие исследования, предусматривающие проведение контролируемых, рандомизированных клинических испытаний с продолжительным проспективным наблюдением. Кроме того, с целью доказательства прямого противовоспалительного эффекта клеток СВФ в дальнейшем необходимо изучать биомаркеры воспалительного процесса как на локальном, так и на системном уровне (в сыворотке крови пациентов с посттравматическими повреждениями) [91, 103, 104, 128].

Клеточная терапия имеет огромный потенциал и может применяться в регенеративной медицине, в частности, при лечении повреждений прямой кишки [54,80].

В основе клеточных технологий, применяемых в регенеративной медицине, лежит применение стволовых клеток. Широко применяется стромально-васкулярная фракция (СВФ). Совокупность всех ядродержащих клеток, которые могут быть выделены из жировой ткани при помощи ферментативного расщепления, носят название стромально-васкулярной фракции (СВФ) [16]. СВФ оказывает противовоспалительный, иммуномодулирующий, антисептический эффекты, способна к дифференцировке в другие типы клеток.

В большинстве случаев жировая ткань, применяемая для выделения стволовых клеток, забирается при помощи резекции липодермальных лоскутов кожи, либо методом липосакции (ЛС). Ряд исследователей сходятся на том, что метод, основанный на применении СВФ, эффективен, безопасен. В первую

очередь обращает на себя внимание иммунологическая и онкогенная безопасность. Также для метода характерна малая инвазивность. Метод не требует существенных материальных затрат.

В остальном, в научной литературе представлено недостаточно сведений, касающихся комплексного исследования перспектив применения СВФ в лечении тканевых повреждений.

Заключение по главе 1

Постлучевые повреждения прямой кишки – частое осложнение лучевой терапии, проводимой по поводу рака шейки матки. Лучевые повреждения представляют собой поэтапные изменения в структуре и функциональном состоянии тканей, окружающих опухоль.

На первом этапе наблюдаются функциональные нарушения, обусловленные нарушением гемодинамики, гипоксией и интоксикацией. На втором этапе происходят изменения на морфологическом уровне, которые сопровождаются молекулярно-генетическими, биохимическими, иммунологическими нарушениями. На третьем этапе происходит развитие воспалительного процесса, наблюдаются склеротические процессы, фиброз. Это приводит к дальнейшему прогрессированию состояния, постепенному развитию ректитов, проктитов. Постепенно слизистая оболочка становится более тонкой, что сопровождается развитием эрозий, изъязвлений, язв, и свищей.

В плане патогенеза практически все местные лучевые реакции сходны между собой. Однако в клиническом проявлении все они характеризуются многочисленностью проявлений и разнообразием. Для постлучевых повреждений прямой кишки характерны как локальные, так и системные нарушения. Основные локальные нарушения проявляются в виде воспалительных, язвенных, эрозивных процессов. Возможны ректальные кровотечения. Из системных нарушений обращают на себя внимание изменения иммунного статуса (напряженность иммунитета, выраженный иммунодефицит, реже – аутоиммунная агрессия). Все

это влечет за собой оксидативный стресс, снижение репарационных способностей поврежденной ткани, нарушение нормального микробиоценоза.

В зависимости от выраженности клинических повреждений, все лучевые осложнения прямой кишки подразделяют на легкие и тяжелые. К легким повреждениям относят катаральные и эрозивные лучевые повреждения, к тяжелым относят язвенные и свищевые повреждения.

Диагностировать постлучевые повреждения на ранней стадии довольно сложно ввиду деликатности проблемы, отсутствия единых диагностических протоколов. Наиболее достоверным методом диагностики является эндоскопическое исследование. Часто применяется ирригоскопия, колоноскопия, МРТ, однако эти методы позволяют определить только локализацию очага поражения, но не особенности его происхождения. Проводится ректальное, вагинальное исследование.

Лечение постлучевых повреждений прямой кишки может быть, как традиционным, так и радикальным, в зависимости от тяжести патологических явлений, прогрессирования патологического состояния. На начальных этапах широко применяется медикаментозная терапия, основу которой составляют противовоспалительные препараты в сочетании с контролем боли. Хирургическое вмешательство требуется для лечения в тяжелых клинических случаях, может привести к значительному улучшению, однако сопровождается повышенным риском послеоперационных осложнений. В качестве альтернативы хирургического лечения на сегодня рассматривают клеточные технологии.

Что касается профилактики, в настоящее время не существует никаких адекватных профилактических мер. В качестве реабилитационных мер пациентам с постлучевыми повреждениями прямой кишки в стадии ремиссии с целью ее сохранения рекомендуется санаторно-курортное лечение в санаторно-курортных организациях климатической зоны проживания пациента.

Наиболее характерным следствием лучевой терапии становится радиационный проктит (воспаление прямой кишки), сопровождающийся слизистыми выделениями, диареей, ректальными кровотечениями, тенезмами,

болевым синдромом, формированием свищей, рубцовыми стенозами, малигнизацией и пр. При микроскопии (эндоскопии) слизистая оболочка отечна, гиперемирована, покрыта слизью или гноем, при язвенном проктите - с изъязвлениями.

Лечение первичного проктита обычно консервативное. Широко используются эндоскопические и медикаментозные техники лечения. Однако лучевые повреждения отличаются тенденцией к прогрессированию. Так, в 4,5-8% случаев лучевые проктиты завершаются тяжелыми лучевыми повреждениями в виде ректовагинальных язв, которые затем переходят в ректовагинальные свищи.

Отличительной чертой, которая отличает лучевые язвы от других язв, является длительный период экссудации язвы и отсутствие заживления тканей. Также крайне медленно происходит отторжение некротизированной ткани, в связи с чем изменяется микрофлора и резко возрастает риск развития септических процессов. Заживление язвы сопровождается развитием грануляционной ткани, при этом в дальнейшем происходит эпителизация и рубцевание основной ткани. Этот процесс протекает крайне медленно, и может длиться в течение нескольких лет.

Полноценному заживлению препятствует снижение репарационных способностей тканей, иммунодефицит, каскад биохимических, иммунологических реакций. Поэтому многие язвы прогрессируют и перерастают в свищи (у женщин – ректовагинальные свищи). Под ректовагинальным свищем (РВС), следует подразумевать тяжелое свищевое поражение ректовагинальной перегородки, при котором формируется сквозное отверстие между влагалищем и прямой кишкой. Постлучевые свищи выделяют в отдельную категорию, поскольку это сложнейшая нозология, которая требует специфического подхода и к диагностике, и к лечению. Они довольно сложно поддаются лечению, практически не заживают самопроизвольно, характеризуются склонностью к рецидивирующему течению. Выделяют 5 степеней тяжести свищей. Тактика лечения во многом зависит от степени тяжести. Что касается диагностики, ректовагинальные свищи легко поддаются диагностике. Их можно выявить в ходе

стандартного гинекологического обследования в зеркалах, при бимануальном влагалищном и ректовагинальном исследовании. Дополнительными методами диагностики РВС, может стать зондирование и прокрашивание свищевого хода.

Консервативное лечение может быть эффективно только в лечении проктитов, язв. В отношении ректовагинальных свищей консервативная терапия оказывается неэффективной. Применяются хирургические методы. Стоит отметить, что хирургические тактики также несовершенны: высокий риск послеоперационных осложнений, частые рецидивы, необходимость постановки разгрузочной колостомы.

В качестве альтернативы хирургическим методам рассматриваются клеточные технологии. В основе клеточных технологий, применяемых в регенераторной медицине, лежит применение стволовых клеток. Перспективным клеточным продуктом является стромально-васкулярная фракция (СВФ), которая оказывает противовоспалительный, иммуномодулирующий, антисептический эффекты, способна к дифференцировке в другие типы клеток. СВФ относится к клеточным продуктам, не требующим культивирования, то есть забор биологического материала, его обработка, получение СВФ и ее клиническое применение возможны в рамках одного хирургического вмешательства. Отсутствие длительного культивирования предотвращает риск возникновения таких неблагоприятных явлений, как контаминация клеточного материала патогенной микрофлорой, генетическая трансформация, спонтанная дифференцировка клеток. СВФ может применяться для лечения постлучевых повреждений прямой кишки.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация (дизайн) исследования

База исследования. 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 исследования, включая подготовительный этап и обобщение полученных данных - 24 месяца.

Характеристика выборки. 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 больные 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, и лечение проводилось общепринятыми методами.

Критерии включения в исследование [47]:

1. Женщины в возрасте от 20 до 75 лет включительно.

2. Диагноз постлучевой ректовагинальный свищ, лучевой проктит, лучевая язва, установленный не ранее 6 месяцев после прохождения последнего курса лучевой терапии.
3. Отсутствие рецидива основного заболевания (полный ответ, регрессия опухоли) за все время наблюдения.
4. Отсутствие злокачественных новообразований прямой кишки, анального канала.
5. Пациент ознакомился с информационным листком и подписал форму информированного согласия.

Критерии исключения [47]:

1. Отказ пациентки от дальнейшего участия в исследовании.
2. Отказ пациентки от соблюдения требований по контрацепции в период участия в исследовании.
3. Рецидив основного заболевания.
4. Состояния, потребовавшие хирургического вмешательства.
5. Выявленные при колоноскопии доброкачественные новообразования толстой/прямой кишки.
6. Несоблюдение больным протокола обследования и лечения.
7. Хроническая болезнь почек IV-V стадий (клиренс креатинина <30 мл/мин по формуле Cockcroft-Gault).
8. Подтвержденные носители сифилиса, ВИЧ или гепатита В или С.

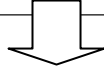
Пациентки контрольной группы в количестве 33 человека, в качестве лечебного метода получали традиционное лечение (медикаментозная терапия, при ее неэффективности – хирургические техники).

Дизайн исследования. Открытое, пилотное несравнительное когортное исследование. Данный дизайн является наиболее подходящим для первого опыта использования нового метода лечения.

Общая схема исследования. В общем виде схему исследования можно представить в виде алгоритма (рисунок 2.1).

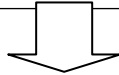
Этап 1.

Обоснование актуальности темы исследования. Проведение систематического литературного обзора. Анализ научных публикаций, протоколов исследований, результатов клинических и доклинических исследований по выбранной теме. Результат – подготовка литературного обзора, обоснование актуальности темы.



Этап 2.

Обоснование актуальности тематики, определение проблемного поля, степени разработанности тематики. Определение целей и задач исследования, обоснование ожидаемых результатов (предполагаемой практической и теоретической значимости, новизны исследования).



Этап 3.

Разработка дизайна исследования. Планирование исследования. Составление выборки, разделение на группы. Подбор клинических методов исследования. Описание методики.



Этап 4.

Клиническая часть.

Работа с основной группой.

Сбор анамнеза пациенток. Определение показаний к лечению с применением метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей.

Проведение основных лабораторных и клинических исследований.

Составление выборки, подбор пациентов с показаниями к проведению процедуры.

Подготовка к проведению манипуляции.

Проведение лечения с применением метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей.

Наблюдение за пациентками после выполнения манипуляции, оценка

эффективности (оценка показателей эпителизации лучевых повреждений, оценка основных биохимических, иммунологических, клинических показателей).



Этап 5.

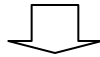
Клиническая часть.

Работа с контрольной группой.

Сбор анамнеза пациенток.

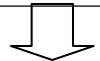
Проведение традиционного лечения.

Оценка эффективности лечения традиционными методами, дальнейшее наблюдение за пациентками.



Этап 6.

Обработка и интерпретация полученных результатов. Математико-статистическая обработка данных. Проведение сравнительного анализа (сравнение результатов контрольной и основной групп). Обоснование эффективности метода.



Этап 7.

Подведение итогов. Обоснование выводов, заключения. Формулирование практических рекомендаций.

Рисунок 2.1 - Организация исследования

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.

В исследовании применялся когортный метод. Пациенты в каждой группе разбивались на 4 когорты по 4 пациента. После включения каждой из первых трёх когорт (4+4+4 пациента) исследователь должен приостановить набор пациентов в следующую когорту до того момента, пока последний, четвёртый пациент из набранной когорты не пройдёт визит 4 (спустя 3 недели после манипуляции).

Проанализировав безопасность, (наличие нежелательных явлений и нежелательных реакций) исследователь принимает решение о возможности набора следующей когорты. Решение принималось в соответствии с «Алгоритмом принятия решения о включении следующей когорты пациентов». При выбывании пациента, получившего введение ткани ранее 4-х недельного срока после манипуляции, исследователь имеет право включить в текущую когорту ещё одного пациента, с тем, чтобы число пациентов в каждой когорте было равно 4. Это необходимо для оценки краткосрочной (4 недели) безопасности исследуемого метода лечения и принятия решения о возможности набора следующей когорты [47].

Таким образом, нами было выбрано открытое, пилотное несравнительное когортное исследование, и данный дизайн является наиболее подходящим для первого опыта использования нового метода лечения.

2.2. Методы исследования

Условно все методы исследования, применяемые в ходе обследования пациенток, можно разделить на отдельные группы [10]:

1. Сбор анамнеза (анамнез жизни, болезни, семейный и социальный анамнез, изучение факторов риска и сопутствующих патологий);
2. Методы клинической диагностики (физикальное обследование, клинический, гинекологический осмотр, пальцевое исследование прямой кишки, оценка анального рефлекса, бимануальное исследование);
3. Методы инструментальной диагностики (зондирование свищевого хода, аноскопия, ректороманоскопия, кольпоскопия, колоноскопия, проктография, ирригоскопия);
4. Методы функциональной диагностики (функциональные исследования состояния запирательного аппарата прямой кишки, эндоректальное ультразвуковое исследование, магнитно-резонансная томография малого таза, метод эластомерии).
5. Методы лабораторной диагностики (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулологическое исследование крови, серологические реакции).
6. Микробиологические, бактериологические методы (исследование кишечной и влагалищной микрофлоры);
7. Морфологические: цитологические, и гистологические методы исследования (исследование биоптата с краев влагалищно-прямокишечного свища, морфологическое исследование биопсийного материала);
8. Иммуногистохимический метод исследования (ИГХ);
9. Методы определения жизнеспособности клеток (метод проточной цитометрии, МТТ-тест, метод суправитальной окраски раствором трипановой сини).
10. Методы оценки качества жизни пациента: Вопросник по оценке качества жизни SF-36, Вопросник для определения качества жизни, EORTC QLQ C-30 (European Organisation for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire), дополненного модулем EORTC QLQ PRT-23. Вопросник представлен в приложении 1.

Все используемые в работе методы соответствуют принципам доказательной медицины.

Для подтверждения диагноза использовались общепризнанные достоверные классификации постановки диагноза (МКБ-10). Для подтверждения диагноза применялись стандартные методы исследования, в том числе лабораторные и инструментальные исследования, гистологический анализ образцов ткани, полученных при биопсии.

Таким образом, нами применялись такие методы исследования, как сбор анамнеза, методы клинической, инструментальной, функциональной диагностики, лабораторные методы. Применялись 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.

2.3. Характеристика лечебных мероприятий, проводимых пациенткам с постлучевыми повреждениями прямой кишки

Исследуемый (исследуемый) метод лечения: аутологичные регенеративные клетки жировой ткани (adipose-derived regenerative cells, ADRC), полученные путем ферментативной обработки жировой ткани передней брюшной стенки, будут вводиться однократно в ректовагинальную перегородку под визуальным контролем.

ОСНОВНАЯ ГРУППА

Получение жировой ткани. Для получения жировой ткани производится ее забор у пациентки. Для забора используется метод липосакции. Манипуляция выполняется в условиях перевязочной. Пациентке делается местная анестезия. На кожу наносится анестезирующий раствор и увлажняющий раствор. Обычно

используется раствор Хартмана или раствор Рингера. Как правило, в раствор добавляется лидокаин для обеспечения местной анестезии, а также адреналин для сужения сосудов. Вещества вводятся в подкожное пространство. Затем, спустя 15 минут в обработанном месте делается небольшой прокол или надрез (диаметр не превышает 0,5 см). В подкожное пространство вводится специальная отсасывающая канюля размером 3 мм, производится отсасывание жировой ткани в шприц. Объем жировой ткани, который необходимо получить таким способом составляет примерно 150-200 мл. Длительность процедуры в среднем занимает 30 минут

Получение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани. В условиях операционной аспирированная жировая ткань вводится в стерильную одноразовую емкость, которая помещается в устройство Celution 800/CRS (CytoriTherapeutics Inc., США, регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012/12193 от 24.05.2012). Устройство Celution 800/CRS сначала осуществляет дренирование увлажняющего агента от ткани и определяет ее объем. Ткань отмывается несколько раз раствором Хартмана, чтобы удалить кровь и инородные вещества. По окончании процесса устройство сигнализирует оператору ввести ферментативный реактив (Celase®) и определяет его необходимое количество. После ферментативной обработки устройство Celution 800/CRS автоматически переносит регенеративные клетки жировой ткани в отмывающее отделение, где путем центрифугирования удаляется остаточный фермент и увеличивается их концентрация. Обработка ткани занимает около 1 часа. Получаемая суспензия клеток соответствует требованиям, изложенным в технической документации на оборудование. После завершения обработки, регенеративные клетки жировой ткани концентрируются в объеме 5 мл, который разделяется на 2 части. Первая часть клеток (объемом 0,5 мл) используется для подсчета их количества, оценки жизнеспособности и проведения тестов на стерильность. Вторая часть клеток помещается в стерильную пробирку и центрифугируется при 300g 10 минут. Полученный осадок регенеративных клеток жировой ткани ресуспендируется в

0,5 мл стерильного физиологического раствора и переносится в стерильный шприц для последующего введения.

Инъекция аутологичных регенеративных клеток жировой ткани. Инъекция проводится врачом в условиях операционной под спино-мозговой анестезией. Окружающие кожные покровы обрабатываются 70 % раствором спирта. В ректовагинальную перегородку вводятся аутологичные регенеративные клетки, полученные из жировой ткани пациентки. Осуществляется данная манипуляция через проколы ректовагинальной перегородки, при этом необходимо достичь максимально глубоких слоев. Процедура осуществляется при помощи канюли (диаметр 1,0-1,2 мм, длина 70 мм, по 0,1-0,2 мл). Манипуляция выполняется ретроградно, за один проход канюли (это подразумевает, что в ходе прокола формируется линейный туннель, который за один подход необходимо полностью равномерно заполнить жировой тканью). Заполнение осуществляется при обратном ходе канюли. На одном уровне выполняется от 3 до 5 введений липоаспирата. При этом используются веерообразные направления туннелей.

Каждый последующий прокол ткани осуществляется на втором, третьем и последующем уровнях глубоких тканей. Процедура выполняется аналогичным образом посредством заполнения аутологичной тканью веерообразно направленных туннелей. При помощи многотуннельной техники введения аутологичных клеток жировой ткани удастся достичь равномерного заполнения жиром всех созданных в ходе прокола туннелей. Именно эта процедура и позволяет максимально равномерно распределить липоаспират среди тканей ректовагинальной перегородки. Распределение производится среди тканей, получающих кровоснабжение, в глубоких слоях.

Для достижения максимального эффекта создается 20-30 проколов из каждого туннеля. Проколы осуществляются в различных направлениях и плоскостях. Также дополнительно совершается 2-3 прокола непосредственно в стенке свища (в краниальной полуокружности). При помощи такой ретроградной веерообразно направленной, многотуннельной технике, удастся ввести

достаточное количество аутологичной регенеративной ткани. Все это способствует эффективному восстановлению глубоких тканей ректовагинальной перегородки.

Уничтожение исследуемого клеточного продукта. Не позднее чем через 24 часа после введения аутологичных регенеративных клеток жировой ткани все остатки биологического материала пациента (жировая ткань, аутологичные регенеративные клетки жировой ткани), за исключением помещённых в криобанк, должны быть уничтожены в соответствии с практикой уничтожения биологических материалов, принятой в исследовательском центре.

Сопутствующая терапия. Для обеспечения благополучия пациента применяются необходимые зарегистрированные лекарственные средства в соответствии со стандартами лечения основного заболевания и возможных осложнений.

КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА

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.

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

будут вводиться однократно в ректовагинальную перегородку под визуальным контролем.

В контрольной группе проводилась стандартная терапия (медикаментозная, при ее неэффективности – применялись хирургические методы). Метод определяли в зависимости от тяжести патологии.

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

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. 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 [38]. На этапе изучения анамнеза пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки, установили преобладание трех типов постлучевых осложнений: ректовагинальный свищ, лучевой проктит, лучевые язвы. Была проанализирована частота встречаемости основных постлучевых повреждений, результаты представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 - Распределение пациенток типу постлучевых осложнений прямой кишки, N = 38

Заболевание	Количество пациенток	Процентное соотношение (%)
РВС	24	62,4
Язва	9	23,4
Проктит	5	13,2
Всего	38	100

Для наглядности данные представлены в виде диаграммы на рисунке 3.1.

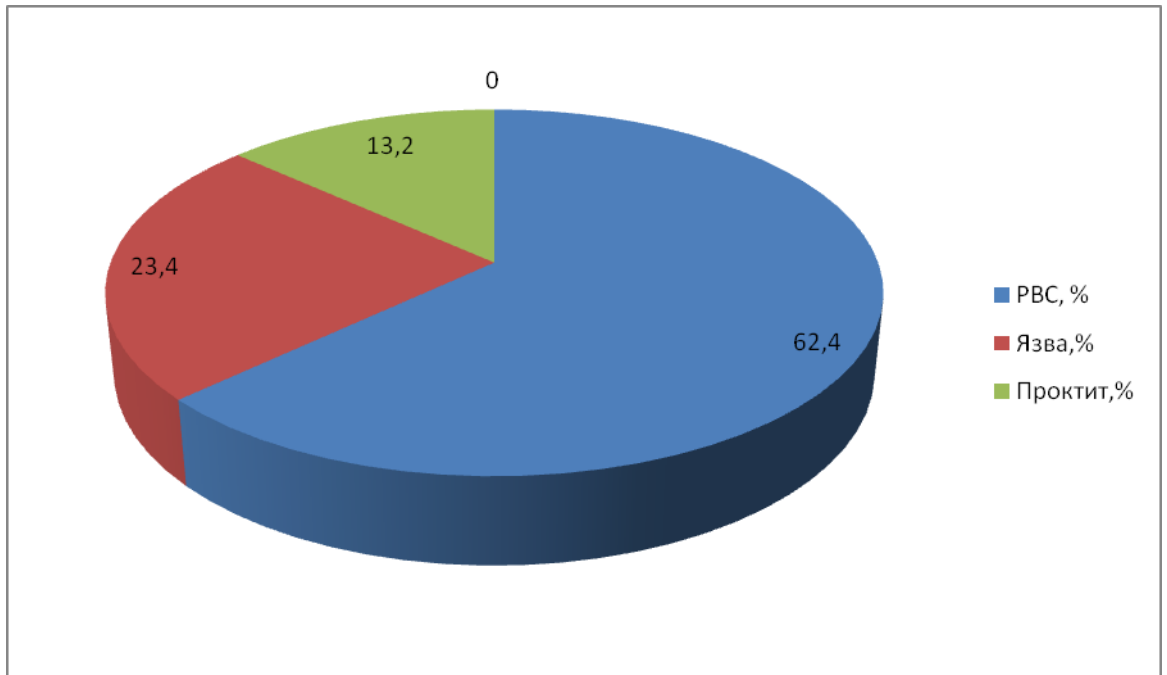


Рисунок 3.1 - Распределение пациенток по типу постлучевых осложнений прямой кишки

Как видно из диаграммы, среди всех пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки, преобладают женщины с постлучевым ректовагинальным свищем. Данная патология отмечена 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%.

Полученные нами данные соотносятся с литературными источниками. Так, в соответствии с результатами, полученными Чернышенко Е.В. [90], наиболее частым лучевым осложнением прямой кишки является ректовагинальный свищ (наблюдается в 45,9% случаев). На втором месте по частоте встречаемости находятся лучевая язва и лучевой проктит (по 27% случаев на каждую патологию). Редкой, статистически не значимой патологией являются такие повреждения, как лучевой ректит, лучевой этителиит.

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. Основные жалобы пациенток с постлучевыми повреждениями представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 - Клинические проявления у пациентов с ректовагинальными свищами

Жалобы пациенток	Удельный вес (в %)
Неинтенсивные боли во влагалище	29%
Непроизвольное отхождение газов через влагалище	71%
Дискомфорт, зуд, жжение во влагалище	68%
Изолированные слизистые выделения из влагалища (проявления кольпита)	9,5%
Скудные гнойные выделения наряду со слизистыми	64%
Дизурические расстройства	43,5%
Повышение температуры тела	30%
Боли внизу живота, обильные гнойные выделения, интоксикация	26,6%

Как видно из таблицы, 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.

Далее нами был проведен анализ сопутствующей патологии пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки (таблица 3.3).

Таблица 3.3 - Сопутствующая патология пациенток с ректовагинальными свищами

Характеристика патологии	Удельный вес, %
Заболевания сердечно-сосудистой системы	53
Заболевания эндокринной системы	20
Заболевания пищеварительной системы	12
Заболевания дыхательной системы	6
Заболевания выделительной системы	3
Заболевания нервной системы	3
Заболевания опорно-двигательного аппарата	1
Другие патологии	2

Как видим из таблицы, у 53% пациенток отмечается патология со стороны сердечно-сосудистой системы. Диагностированы различные заболевания, в том числе, атеросклероз, кардиосклероз, сосудистые патологии. Также у многих пациенток встречается патология эндокринной и пищеварительной систем.

Основной процент сопутствующей патологии приходится именно на эти три системы, и это выступает весьма значимым неблагоприятным фактором, поскольку от функционирования сердечно-сосудистой и эндокринной систем, напрямую зависят особенности микроциркуляции, защитных и компенсаторных возможностей организма, гормональный фон. От функционирования этих систем напрямую зависят функциональные возможности всех остальных систем, а также их репарационные возможности, восстановительные механизмы. Для большей наглядности данные представлены на рисунке 3.2.

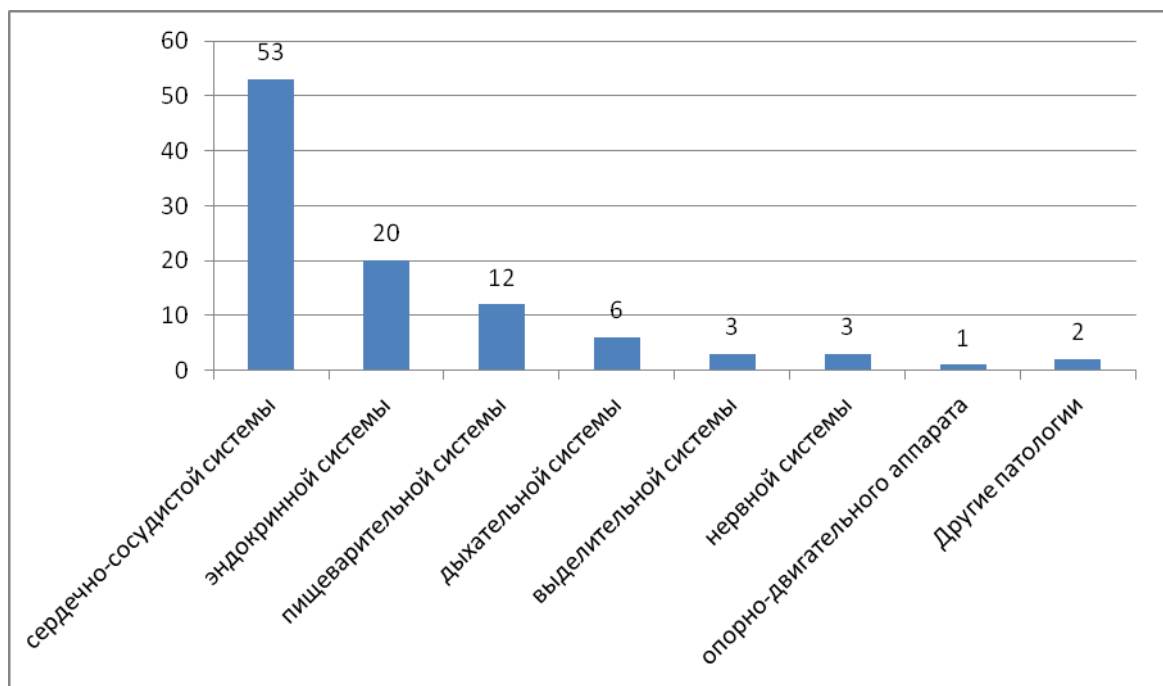


Рисунок 3.2 - Удельный вес сопутствующей патологии (в %)

Как видно из диаграммы, менее значимыми являются сопутствующие патологии выделительной, нервной, опорно-двигательной систем. Для нас наибольший интерес представляет патология пищеварительной системы, поскольку любое структурное или функциональное нарушение в этой системе может рассматриваться как фактор риска, повышающий вероятность развития хронических лучевых повреждений прямой кишки. Как показывает практика, пациентки, имеющие в анамнезе заболевания пищеварительной системы,

характеризуются высокой степенью предрасположенности к развитию лучевых повреждений со стороны прямой кишки.

С учетом того факта, что на вероятность возникновения лучевых альтераций с ректальной локализацией напрямую влияет величина суммарной поглощенной дозы, от режимов фракционирования, от особенностей планирования и реализации лучевой терапии, нами была проанализирована предшествующая лучевая терапия. Анализ данных анамнеза показывает, что временной интервал, определяемый временем, прошедшим от момента окончания последнего курса лучевой терапии до появления первых признаков лучевого повреждения прямой кишки, находится в пределах от 3 до 48 месяцев. Данные о диапазоне проведенной пациенткам лучевой терапии приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 - Диапазон лучевой терапии пациенток с ректовагинальными свищами

	Суммарная очаговая доза лучевой терапии			
	40-50 Гр	51-60 Гр	61-70 Гр	71-80 Гр
Удельный вес пациентов, %	22	4	8,5	65,5

Так, из таблицы видим, что у 34,5% пациентов консолидированная доза лучевой терапии не превышает уровня толерантных значений для слизистой оболочки прямой кишки (60-70 Гр). В то же время, примерно в 65,5 % случаев диапазон лучевой нагрузки выше уровня толерантных нагрузок и расположен в пределах от 70 до 80 Гр. Такая нагрузка является одним из триггерных факторов риска, которые способствуют развитию лучевых повреждений прямой кишки. Полученные нами данные сопоставимы с данными литературных источников [43, 44, 50, 51, 116].

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 было подробно изучено все 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. Исключение составляет клинический случай пациентки Носовой В.В., которая включена в исследование для сравнения и оценки возможностей метода и перспектив дальнейшего исследования. Так, клинический случай Носовой В.В. демонстрирует возможность применения разработанного нами метода лечения повреждений прямой кишки с применением аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения ректовагинальных свищей различной этиологии. Рак органов малого таза у данной пациентки диагностирован не был. Соответственно, лучевая терапия не проводилась. Тем не менее, у нее диагностирован рецидивирующий ректовагинальный свищ, как осложнение, полученное во время родов в результате разрыва промежности, что является довольно распространенной и актуальной проблемой современной медицины. Пациентка перенесла множественные хирургические вмешательства в объеме иссечения, ушивания ректовагинального свища, пластику ректовагинальной перегородки. Положительного эффекта не наблюдается, отмечаются рецидивы. Болеет с 1993 года. В качестве сопутствующей патологии диагностирован язвенный колит средней тяжести, рецидивирующее течение.

В остальном, 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.), 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 аутоотрансплантация 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 ФНА - от последней лучевой терапии до постановки диагноза постлучевая язва прямой кишки прошло 6,5 лет. Также отмечается один клинический случай острого развития постлучевых осложнений прямой кишки, без симптомов-предвестников: пациентка была госпитализирована с ректальным кровотечением в экстренном порядке. 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. Результаты представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 - Показатели качества жизни пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки

Исследуемый параметр	Среднее значение (баллы)	Минимальный уровень (баллы)	Максимальный уровень (баллы)
Физическое состояние	45,9±26,9	26	85
Болевые ощущения	35±22	22	80
Репродуктивное здоровье	47,6±15,5	25	80
Удовлетворенность жизнью	38±20	5	80
Социальная активность	36,7±19	12,5	87,5
Эмоциональное состояние	12,5±2,5	0	100
Ментальное самочувствие	45,5±21,4	8	88

Как видим из представленной таблицы, качество жизни пациенток, страдающих постлучевыми повреждениями прямой кишки, находится на низком уровне. Так, физическое состояние пациентки в среднем оценивают в $45,9 \pm 26,9$ баллов. При этом минимальный показатель качества физического состояния составляет 26 баллов.

Таким образом, обращает на себя внимание тот факт, что заболевание наибольшим образом влияет на эмоциональное состояние пациенток. Так, в среднем пациентки оценивают свое эмоциональное состояние в $12,5 \pm 2,5$ баллов с минимальным показателем = 0. Это негативно отражается социальной активности пациенток, и на удовлетворенности жизнью в целом. Так, уровень социальной активности в среднем пациентки оценивают в $36,7 \pm 19$ с минимальным показателем в 12,5 баллов. Средний показатель удовлетворенности жизнью составляет 38 ± 20 баллов при минимальном показателе в 5 баллов. Болевые ощущения отмечает $35 \pm 22\%$ пациенток. Репродуктивное здоровье пациентки оценивают в среднем в $47,6 \pm 15,5$ балла с минимальными показателями в 25 баллов. При этом большинство пациенток указывает на страх и стеснение перед половыми контактами, избегание интимной близости, страх новых знакомств, свиданий (в связи с осознанием своего дефекта, нарушением гигиены, дискомфортом). Это негативно сказывается на возможности завести семью у незамужних женщин, а также часто становится причиной конфликтов в семье, разводов. Ментальное самочувствие пациентки оценивают в среднем в $45,5 \pm 21,4$ баллов. При этом минимальный показатель составляет 8 баллов.

3.2. 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 3.6.

Таблица 3.6 - Сводные данные по показателям эпителизации ректовагинальных свищей и язв в динамике, N = 33

Показатель	До процедуры	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 года	5
Медиана	1,5	0,25	0,05	-	3
Асимметрия	5,58901299 9	5,79499243 4	5,80192648 7	-	5,70846648 4
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 3.3.

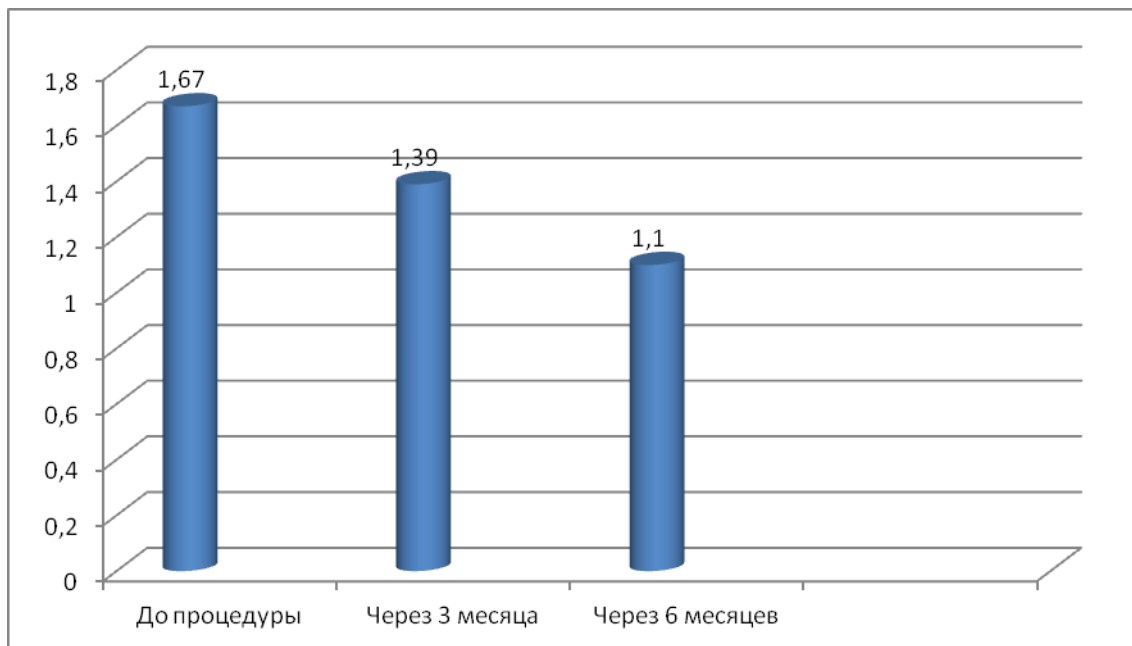


Рисунок 3.3 - Показатели эпителизации свищей и язв в динамике (размер дефекта, см)

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 3.7.).

Таблица 3.7 - 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 3.4.

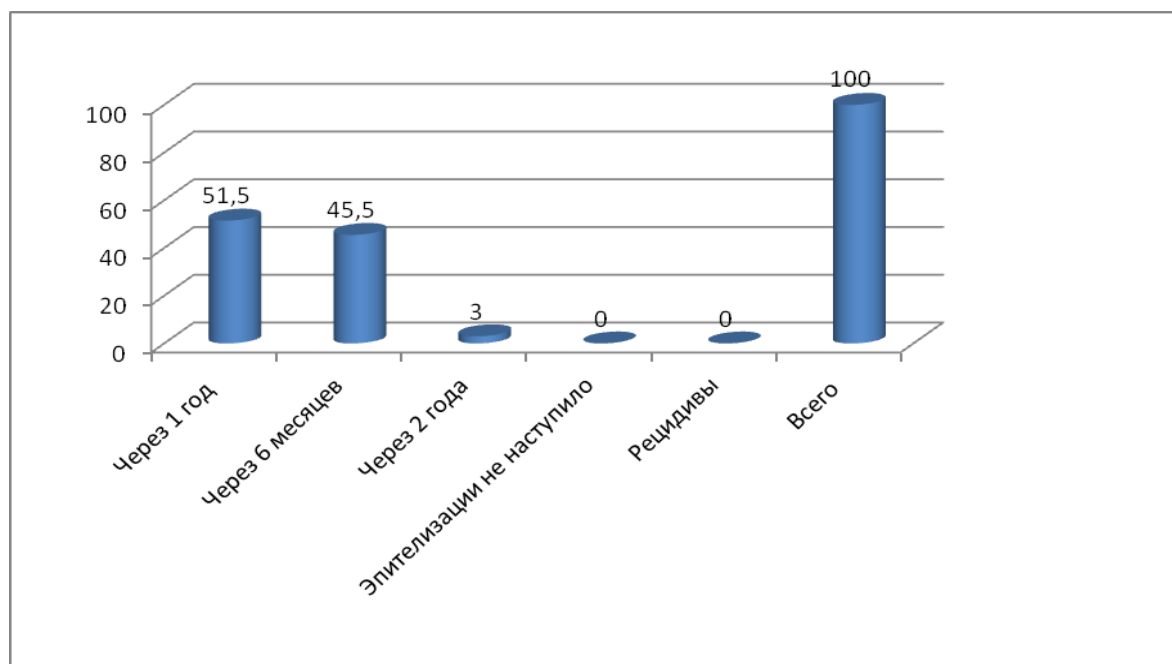


Рисунок 3.4 - Сроки наступления полной эпителизации свищей и язв, % пациентов

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 $= 1$ – означает наличие корреляционной зависимости между данными. Если $= -1$, то присутствует отрицательная корреляция. Если $= 0$, корреляционная связь отсутствует. Результаты представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8 - 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

лечения, 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 3.5. и рисунке 3.6.

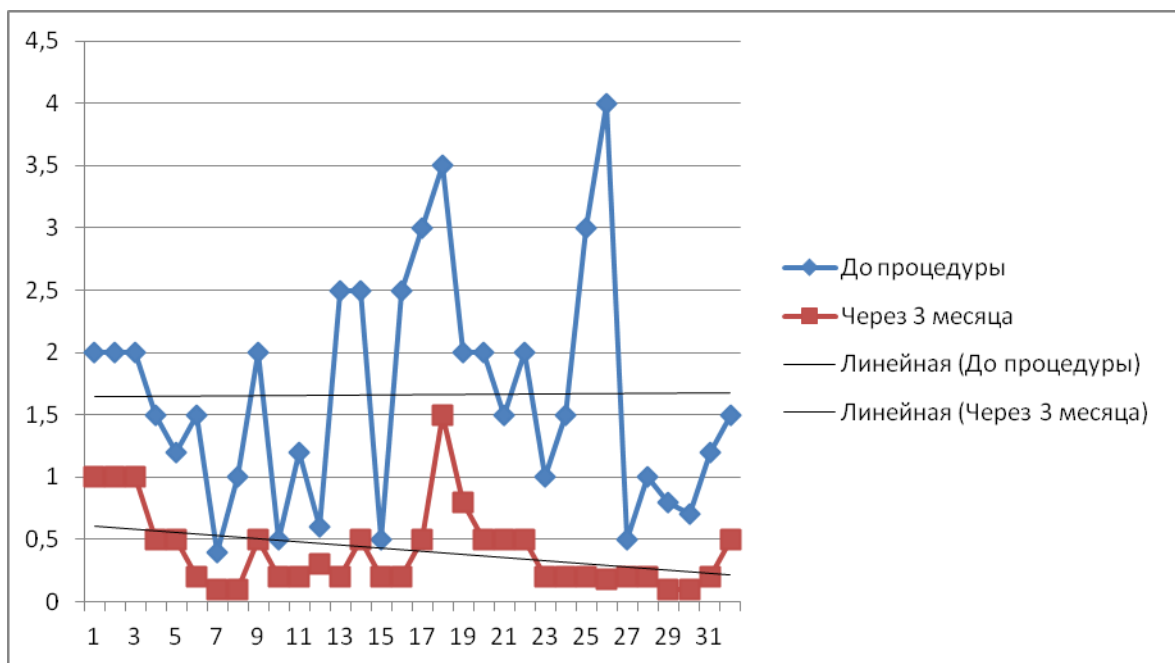


Рисунок 3.5 - Тенденция эпителизации постлучевых повреждений прямой кишки через 3 месяца (показатель тенденции = 2,780169041)

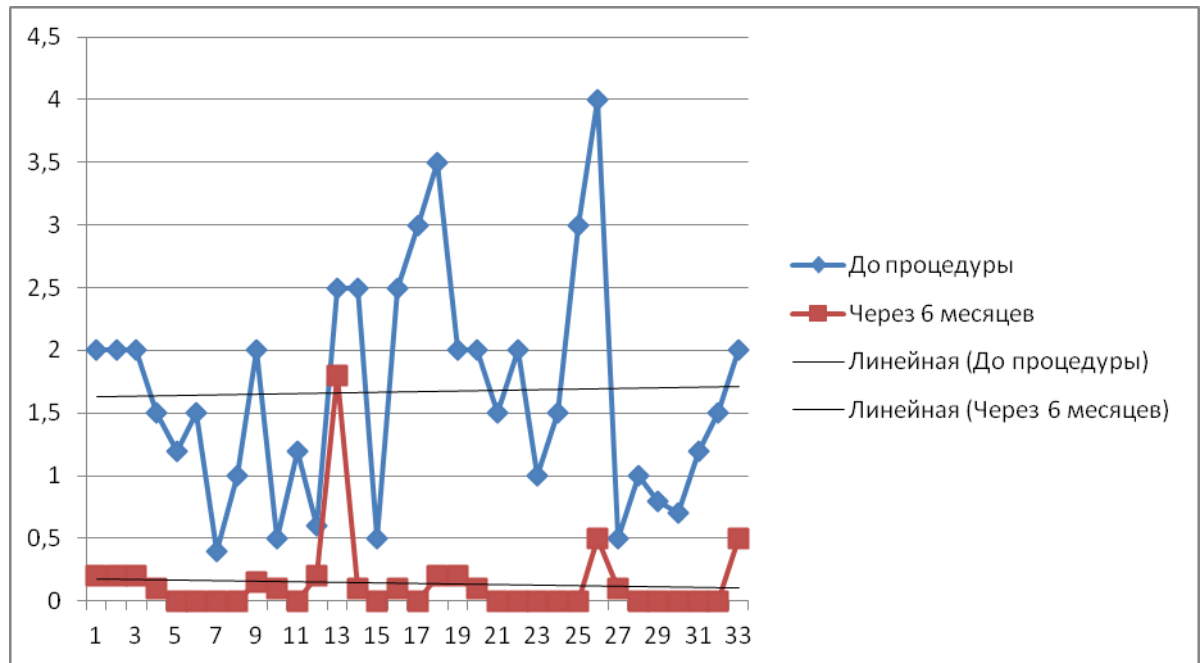


Рисунок 3.6 - Тенденция эпителизации постлучевых повреждений прямой кишки через 6 месяцев (показатель тенденции = 0,549908)

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. Характеристика периода наступления полной эпителизации, в зависимости от заболевания, представлена в таблице 3.9.

Таблица 3.9 - Период наступления полной эпителизации, N = 33

Срок эпителизации	Язва N = 9		Ректовагинальный свищ N = 24	
	Абсолютное число	Процент	Абсолютное число	Процент
Через 1 год	2	22,5	15	63
Через 6 месяцев	7	77,5	8	33
Через 2 года	0	0	1	4
Эпителизации не наступило	0	0	0	0
Рецидивы	0	0	0	0
Всего	9	100	24	100

Как видно из таблицы, полной эпителизации удалось достичь всем пациенткам, вне зависимости от типа осложнения. Однако обращает на себя внимание тот факт, что у пациенток с лучевой язвой полной эпителизации удалось достичь уже через 6 месяцев (77,5% пациенток). Тогда как у пациенток с ректовагинальным свищем, полная эпителизация у большинства пациенток наступала только спустя 1 год (63% пациенток). У пациенток с постлучевой язвой все дефекты были полностью эпителизированы в период от 6 до 12 месяцев (случаи заживления дефекта спустя 1 год отмечались у 22,5%). У пациенток с ректовагинальным свищем у 1 пациентки (4%) с наиболее сложной патологией, полная эпителизация дефекта наступила через 2 года.

Для наглядности данные представлены на рисунке 3.7.

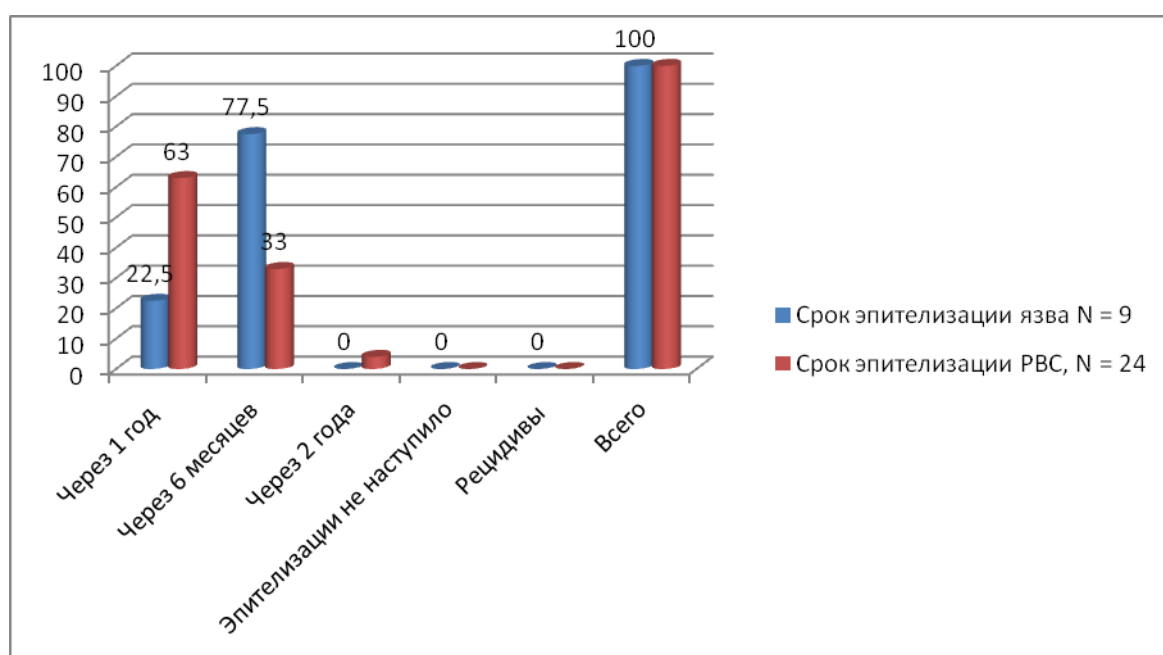


Рисунок 3.7 - Сроки наступления эпителизации, в зависимости от заболевания, % пациентов

Как видим из диаграммы, случаев незаживления дефектов ни в одном случае не отмечалось, рецидивов также не наблюдалось. Все это позволяет сделать вывод об эффективности предложенного способа заживления дефектов прямой кишки с использованием аутологичной жировой ткани. На лечение

ректовагинального свища требуется больше времени (в среднем 1 год), чем на лечение постлучевой язвы (в среднем 6 месяцев), что объясняется спецификой патологии, различными механизмами патогенеза, лежащими в основе заболевания.

Далее нами были проанализированы основные показатели эпителизации ректовагинальных свищей. Оценивали размер (диаметр) свища в динамике (до процедуры, на промежуточной стадии – через 3 месяца и спустя 6 месяцев после процедуры). Данные представлены в таблице 3.10.

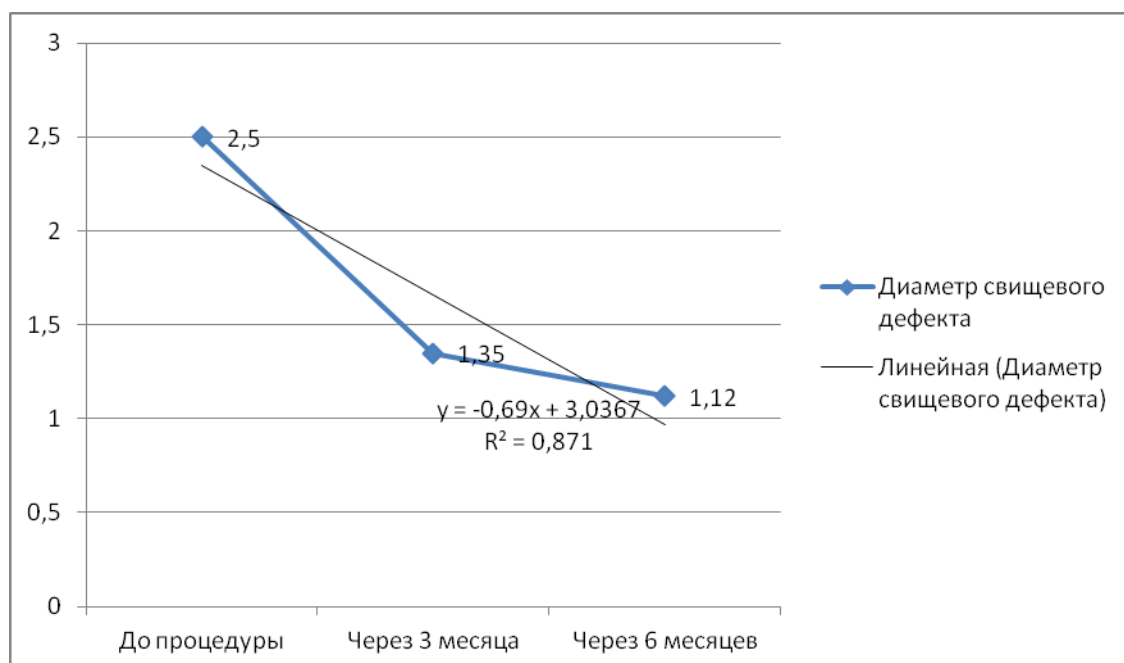
Таблица 3.10 - Показатели заживления РВС в динамике, N = 24

Показатель	До процедуры	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Полная эпителизация	Количество инъекций
Среднее значение	2,5	1,35	1,12	через 1 год	3
Минимум	0,4	0,1	0	через 6 месяцев	2
Максимум	4	1,5	1,8	через 2 года	5
Медиана	1,5	0,2	0,1		3
Асимметрия	4,63534441 5	4,95130318 2	4,95591306 2		4,85727787 4
Стандартное отклонение	0,46	0,47	0,47		0,42

Как видим из таблицы, отмечается тенденция к улучшению состояния. Так, если до процедуры средний диаметр свища составлял $2,5 \pm 0,46$ см, то через 3 месяца эти показатели составили $1,35 \pm 0,47$, а через 6 месяцев – $1,12 \pm 0,47$ см. Полная эпителизация дефекта наблюдалась у всех пациенток. Период, за который удалось достичь полной эпителизации, варьирует в пределах от 6 месяцев до 2 лет. У большинства пациенток полная эпителизация наблюдалась уже через 1 год.

У некоторых 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 ректовагинального свища, большинству пациенток потребовалось 3 инъекции аутологичной жировой ткани. В наиболее тяжелых случаях применялось 5 инъекций. Минимальное число инъекций, которое потребовалось для достижения полной эпителизации свищевого дефекта, составило 2 инъекции.

Данные представлены на рисунке 3.8.



Рисунке 3.8 - Показатели эпителизации свищевого дефекта в динамике, см

Как видим из диаграммы, отмечается устойчивая тенденция к снижению размеров свищевого дефекта в динамике от 2,5 см до начала лечения до 1,12 см спустя 6 месяцев после проведения процедуры. Линия тренда показывает положительную динамику и позволяет спрогнозировать дальнейшее снижение размера свища с течением времени.

Полученные данные указывают на эффективность проведенной терапии.

Далее нами был проведен корреляционный анализ и высчитана тенденция эпителизации ректовагинальных свищей. Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 3.10.

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 3.11.

Таблица 3.11 - Показатели корреляции

До процедуры	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
1		
0,454604685	1	
0,376273077	0,023649725	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 лечения ректовагинальных свищей с применением аутологичной жировой ткани.

Далее нами была выявлена тенденция эпителизации постлучевых ректовагинальных свищей спустя 3 месяца и спустя 6 месяцев после проведения процедуры. Анализ трендов представлен на рисунке 3.9. и рисунке 3.10.

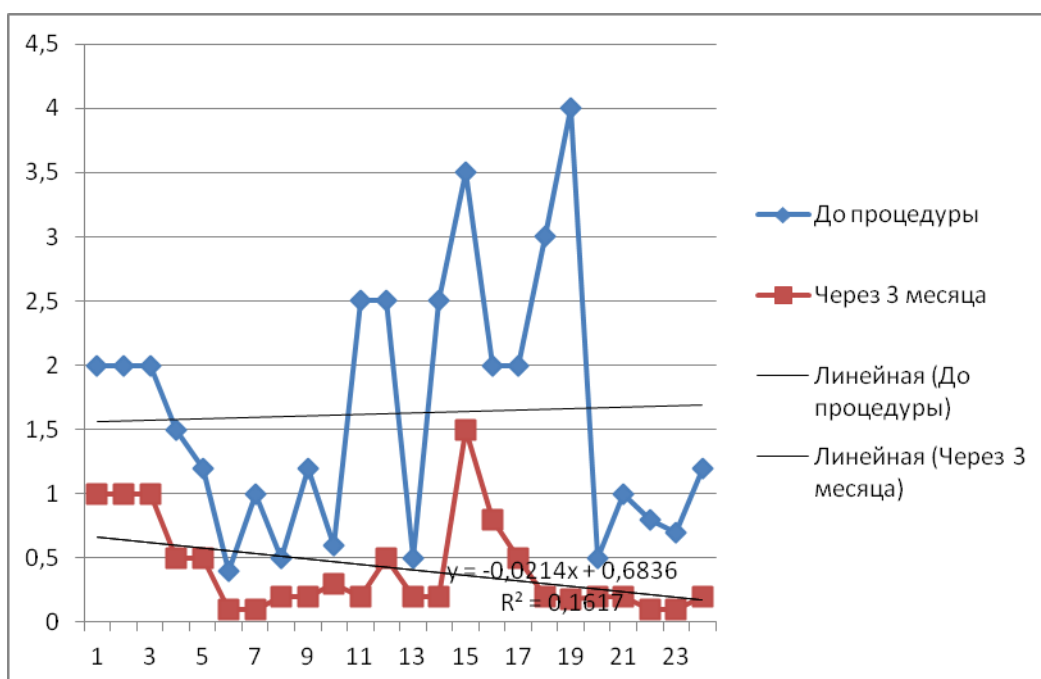


Рисунок 3.9 - Тенденция эпителизации РВС (через 3 месяца). Показатель тенденции = 2,727861

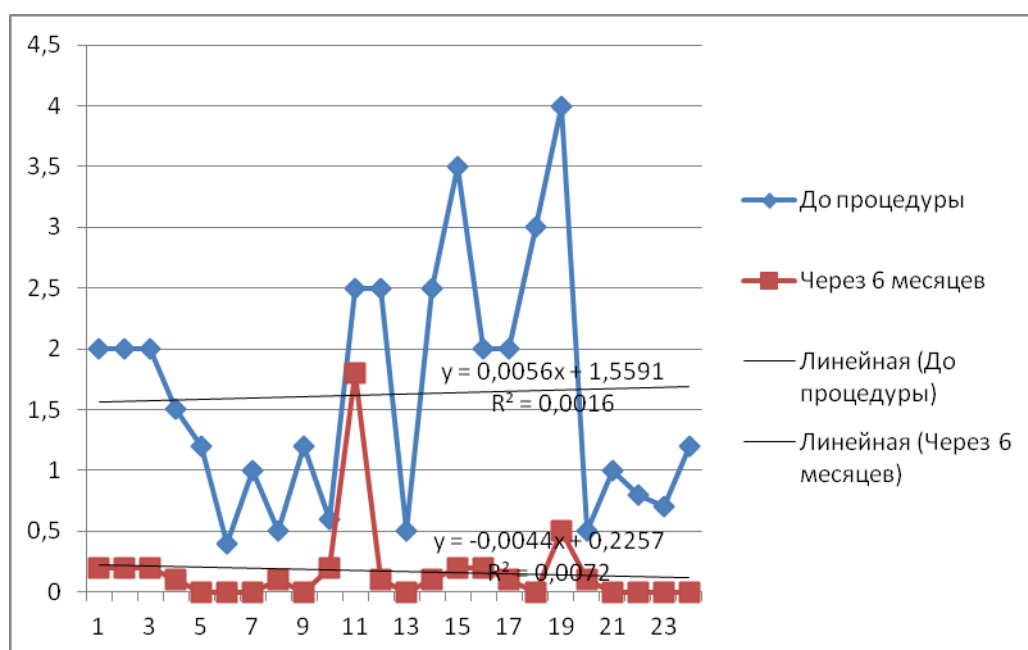


Рисунок 3.10 - Тенденция эпителизации РВС (через 6 месяцев). Показатель тенденции = 0,520844327

Как видим из данных, представленных на диаграммах, отмечается тенденция к устойчивому снижению размеров ректовагинального свища в динамике спустя 3 месяца, и спустя 6 месяцев. До проведения процедуры

отмечалась устойчивая тенденция к увеличению размеров свища в динамике с течением времени. По сравнению с данными, полученными до проведения процедуры, спустя 3 месяца уже наметилась тенденция к снижению размеров дефекта в 3 раза. Линия тренда показывает тенденцию к дальнейшему снижению показателей до размера дефекта 0,2 см и ниже. Спустя 6 месяцев наблюдается устойчивая тенденция к снижению диаметра дефекта постлучевых повреждений примерно в 7-7,5 раз 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 ректовагинального свища 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 ректовагинального свища.

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

Далее нами были проанализированы основные показатели заживления постлучевых язв. Данные представлены в таблице 3.12.

Таблица 3.12 - Показатели заживления язв, в динамике N = 9

Показатель	До процедуры	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Полная эпителизация	Количество инъекций
Среднее значение	2,5	1,33	0,97	через 6 месяцев	3
Минимум	1	0,2	0	через 6 месяцев	2
Максимум	3	1,2	0,5	через 1 год	3
Медиана	1,75	0,5	0		2
Асимметрия	2,874979357	3,096936843	3,144177747		2,893187812
Стандартное отклонение	0,23	0,27	0,28		0,2

Как видим из таблицы, отмечается тенденция к улучшению состояния. Так, если до процедуры средний диаметр язвы составлял $2,5 \pm 0,23$ см, то через 3 месяца эти показатели составили $1,33 \pm 0,27$, а через 6 месяцев – $0,97 \pm 0,28$ см. Полная эпителизация дефекта наблюдалась у всех пациенток. Период, за который удалось достичь полной эпителизации, варьирует в пределах от 6 месяцев до 1 года. У большинства пациенток полная эпителизация наблюдалась уже через 6 месяцев. В среднем, для достижения полной эпителизации постлучевой язвы, большинству пациенток потребовалось 3 инъекции аутологичной жировой ткани. В наиболее тяжелых случаях применялось 3 инъекции. Минимальное число инъекций, которое потребовалось для достижения полной эпителизации язвенного дефекта, составило 2 инъекции.

Наглядно изменения диаметра язвы представлены на рисунке 3.11.

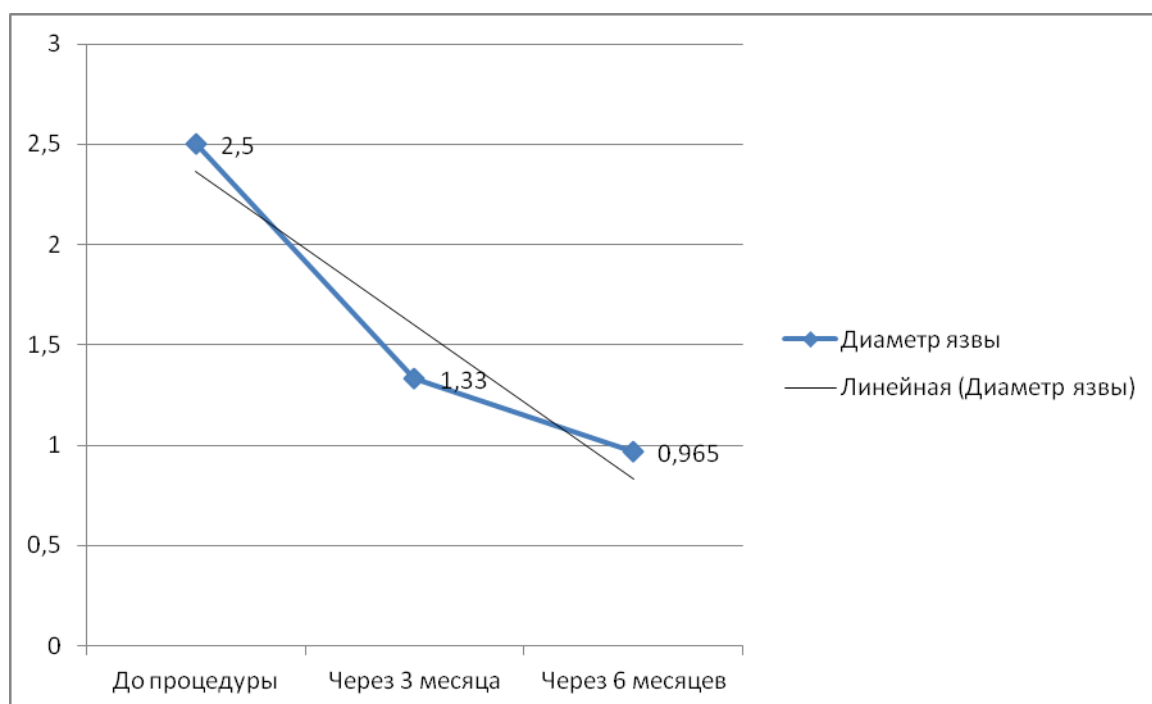


Рисунок 3.11 - Показатели эпителизации язв в динамике, см

Как видим из диаграммы, отмечается устойчивая тенденция к снижению размеров язвы в динамике от 2,5 см до начала лечения до 0,97 см спустя 6 месяцев после проведения процедуры. Линия тренда показывает положительную динамику и позволяет спрогнозировать дальнейшее снижение размера свища с течением времени.

Полученные данные указывают на эффективность проведенной терапии.

Далее нами был проведен корреляционный анализ и высчитана тенденция эпителизации постлучевых язв. Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 3.13.

Таблица 3.13 - Анализ показателей эпителизации язв, N = 9

До процедуры	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
1		
0,399808138	1	
0,190252957	0,882818384	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 лечения постлучевых язв с применением аутологичной жировой ткани.

Далее нами была выявлена тенденция эпителизации постлучевых язв спустя 3 месяца и спустя 6 месяцев после проведения процедуры. Анализ трендов представлен на рисунке 3.12 и рисунке 3.13.

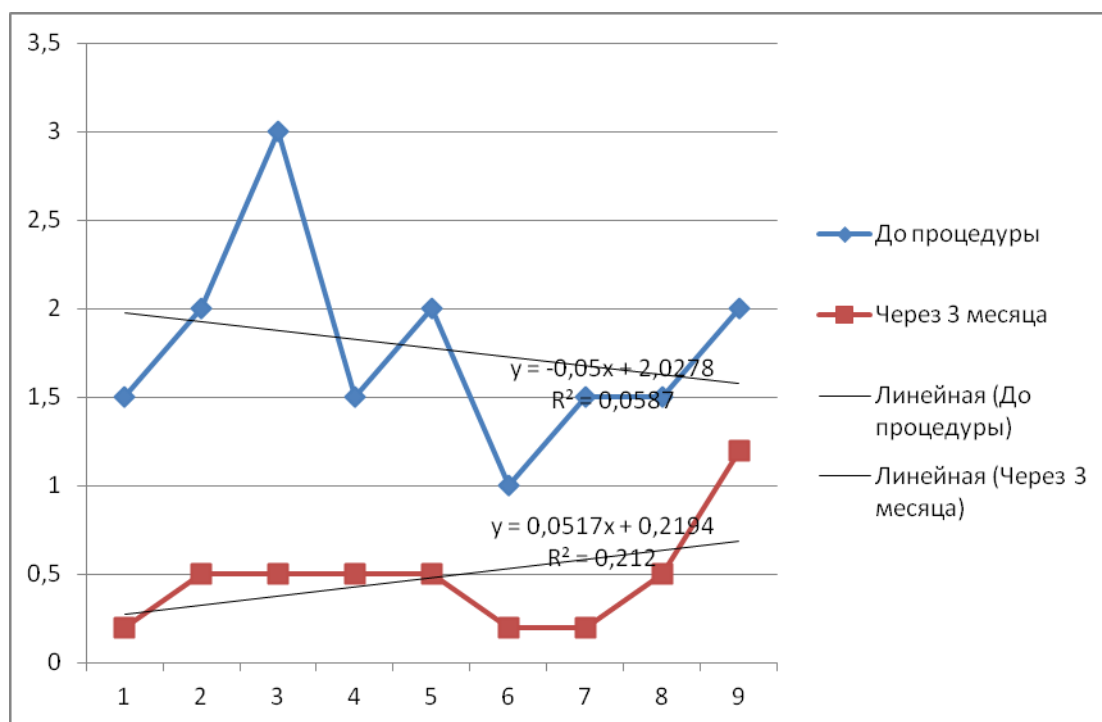


Рисунок 3.12 - Тенденция заживления язв через 3 месяца. Показатель тенденции = 0,58363

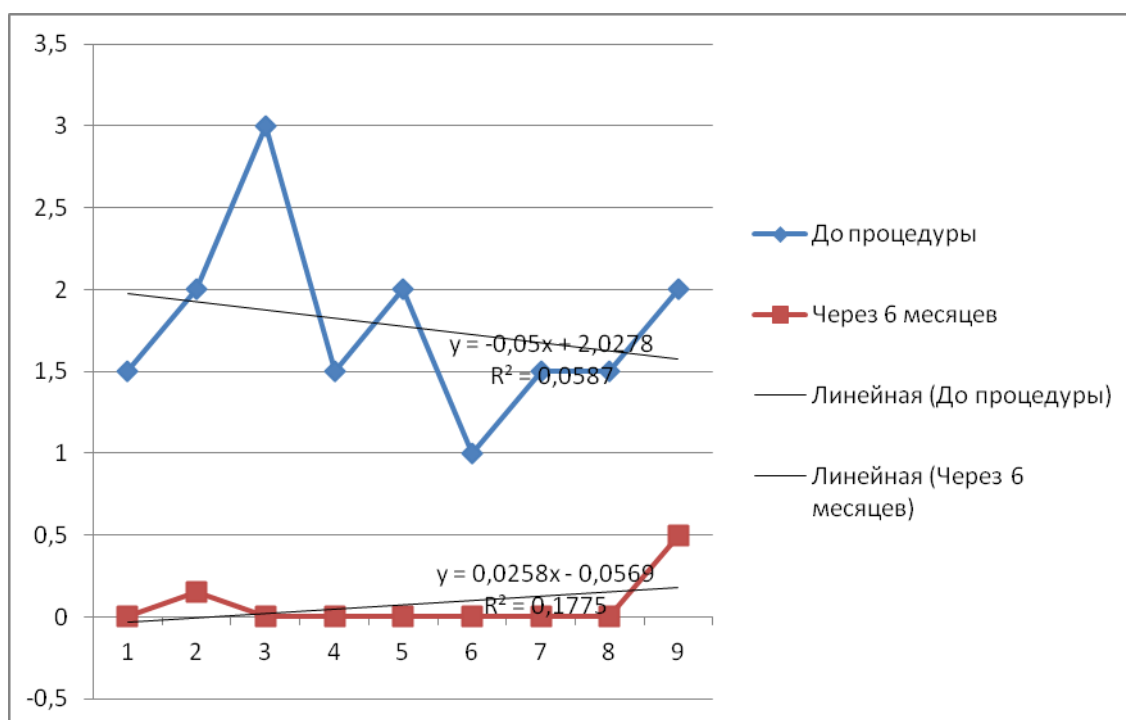


Рисунок 3.13 - Тенденция заживления язв через 6 месяцев. Показатель тенденции = 0.

Как видим из данных, представленных на диаграммах, отмечается тенденция к устойчивому снижению размеров постлучевой язвы в динамике спустя 3 месяца, и спустя 6 месяцев. Обращает на себя внимание тот факт, что спустя 3 месяца после проведенной терапии с использованием аутологичной жировой ткани, отмечается общая тенденция к увеличению размеров дефекта в среднем от 0,3 до 0,7 см в диаметре. Однако, по сравнению с исходными данными, полученными до проведения процедуры, показатели в целом существенно улучшились. Отмечается снижение показателей от 1,5-2 см до начала лечения, до 0,3 – 1,2 см спустя 3 месяца. По сравнению с данными, полученными до проведения процедуры, и данными полученными спустя 3 месяца, показатели улучшились в 6,6 раза.

При анализе данных, полученных до начала лечения, и спустя 6 месяцев после проведенного лечения, отмечается достоверное улучшение результата. Если до процедуры средние показатели диаметра язвы составляли 1,5-2 см, то спустя 6 месяцев после проведенного лечения, средние показатели = 0, то есть, отмечается

полная эпителизация дефекта. Только у некоторых пациенток дефект все еще сохраняется (им потребовался более длительный период – 1 год для достижения полной эпителизации). В целом, при сравнении результатов, полученных до проведения лечения, и спустя 6 месяцев, отмечается улучшение результатов примерно в 20 раз.

Определенные опасения представляет линия тренда, которая показывает тенденцию 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 своевременно принять необходимые меры. Возможно, пациентками потребуется повторное контрольное введение аутологичной жировой ткани для закрепления ожидаемого результата. Это требует исследования дальнейших отсроченных результатов.

Спустя 6 месяцев наблюдается устойчивая тенденция к снижению диаметра дефекта постлучевых повреждений примерно в 7-7,5 раз 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 ректовагинального свища 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 ректовагинального свища.

Таким образом, анализ результатов лечения постлучевых ректовагинальных свищей, позволяет нам сделать вывод об эффективности проведенного лечения и отметить положительную динамику у всех пациенток. Тенденция к снижению диаметра свищевого дефекта, достижение полной эпителизации дефекта и

отсутствие рецидивов позволяет сделать вывод об эффективности проведенного лечения ректовагинальных свищей и возможности применения аутологичной жировой ткани для лечения постлучевых ректовагинальных свищей.

Далее нами был проведен анализ заживления ректовагинальных свищей и язв на основе показателей эластометрии. Данные представлены в таблице 3.14.

Таблица 3.14 - Показатели эластометрии в динамике

Показатель	До процедуры	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Полная эпителизация	Перед закрытием стомы
Среднее значение (кПа)	92,77777778	63,30769231	44,23077	32,08	26,70588235
Минимум (кПа)	56	41	29	21	21
Максимум (кПа)	150	93	71	57	40
Медиана	94	61	44,5	31	27
Ассиметрия	- 0,058118232	- 0,012773944	0,538631	1,523633639	1,502217783
Стандартное отклонение	29,05873804	20,12514692	12,28758	7,873584529	4,398361995

Как видно из таблицы, отмечается улучшение показателей эластометрии в динамике. Так, если до начала лечения средние показатели эластометрии составляли 93 ± 29 кПа, то спустя 6 месяцев после процедуры эти показатели составили в среднем $63,3 \pm 20,1$ кПа. Существенное снижение результатов эластометрии наблюдается при полной эпителизации: в среднем $32,08 \pm 7,87$ кПа. Перед закрытием стомы показатели эластометрии составляли $26,7 \pm 4,4$ кПа. Полученные данные указывают на улучшение состояния.

Далее нами был проведен корреляционный анализ полученных результатов. Данные представлены в таблице 3.15.

Таблица 3.15 - Корреляционный анализ

До операции	Через 3 месяца	Через 6 месяцев	Полная эпителизация	Перед закрытием стомы
1				
0,489837186	1			
0,411634998	0,721658995	1		
0,42038329	0,632785452	0,728576582	1	
0,174689156	0,229468338	0,254022349	0,530215813	1

Как видно из таблицы, отмечается положительная корреляция между результатами эластометрии, полученными до операции и спустя 3 месяца после процедуры, между результатами, полученными через 3 и через 6 месяцев после процедуры, между результатами, полученными через 6 месяцев и в период полной эпителизации, а также перед закрытием стомы. Все это указывает на тенденцию к улучшению состояния пациенток в динамике, и свидетельствует об эффективности лечения постлучевых язв с применением аутологичной жировой ткани.

Далее нами была выявлена тенденция изменения показателей эластометрии спустя 3 месяца, спустя 6 месяцев после проведения процедуры, а также в период полной эпителизации и перед закрытием стомы. Анализ трендов представлен на рисунках 3.14 – 3.17.

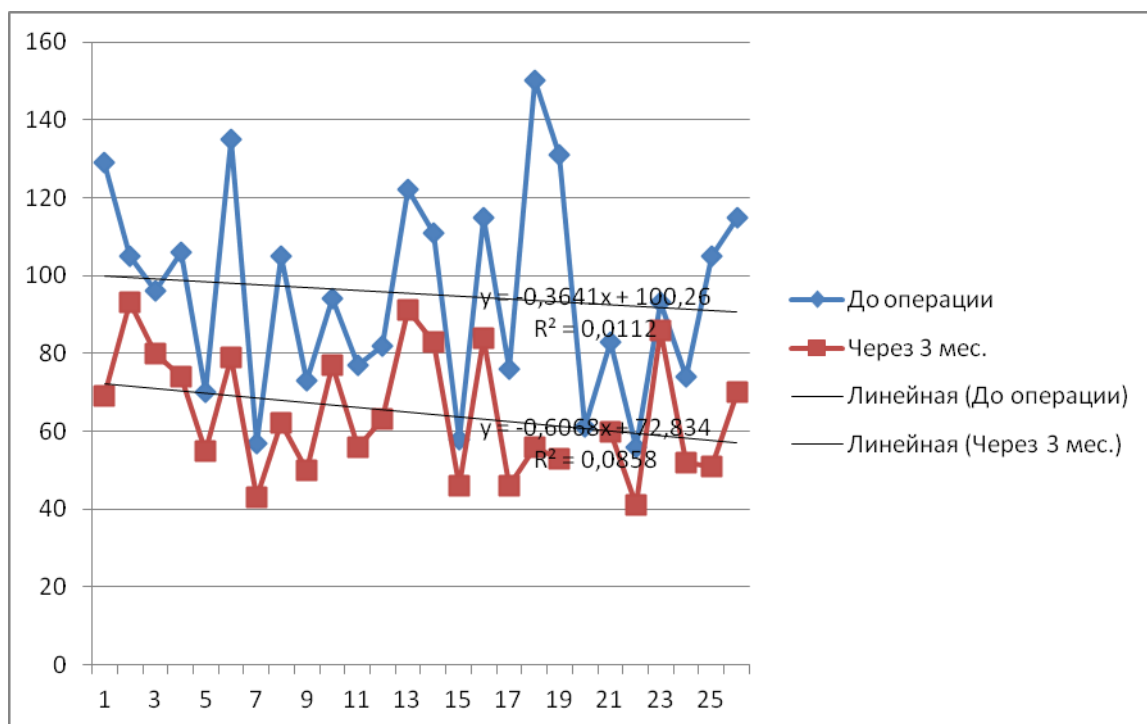


Рисунок 3.14 - Тенденция заживления РВС и язв по результатам эластометрии через 3 месяца

Как видим из данных, представленных на диаграмме, спустя 3 месяца после проведенной процедуры, отмечается тенденция к устойчивому снижению показателей эластометрии. Спустя 3 месяца после проведенной терапии с использованием аутологичной жировой ткани, отмечается общая тенденция к снижению показателей эластометрии в среднем от 70кПа до 55кПа. По сравнению с исходными данными, полученными до проведения процедуры, показатели также существенно улучшились. Отмечается снижение показателей от 90-100кПа до начала лечения, до 55-70кПа спустя 3 месяца. По сравнению с данными, полученными до проведения процедуры, и данными полученными спустя 3 месяца, показатели улучшились в 1,8 раза. Анализ тренда показывает тенденцию к дальнейшему снижению показателей эластометрии. На данном этапе уже можно сделать вывод об эффективности лечения.

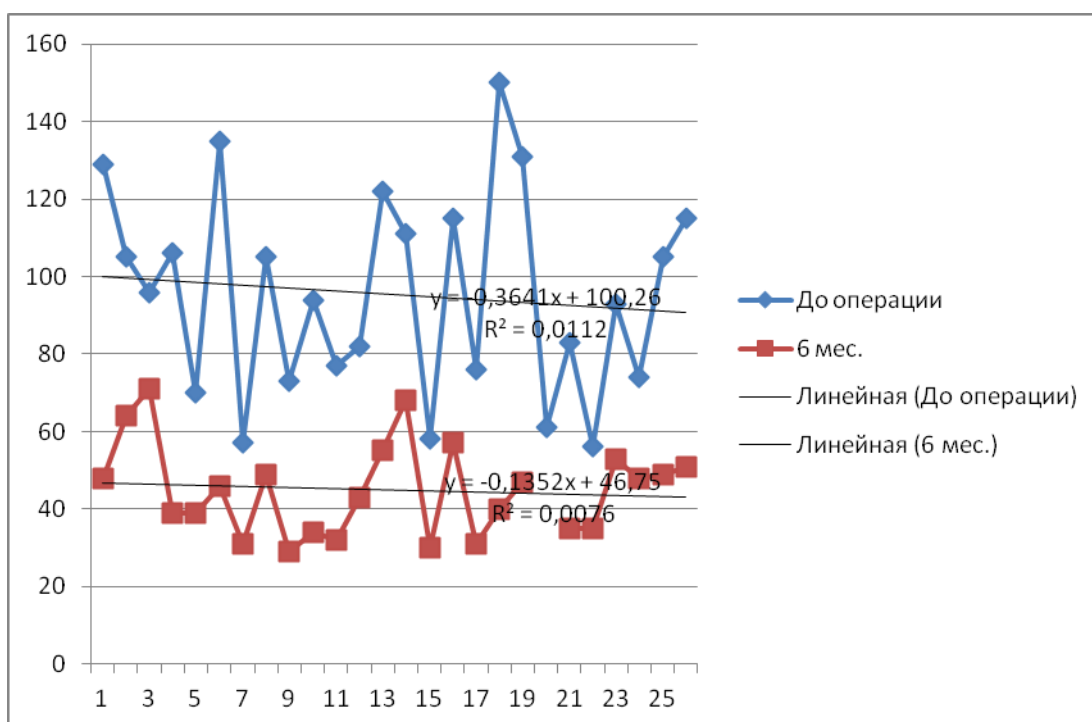


Рисунок 3.15 - Тенденция заживления РВС и язв по результатам эластометрии через 6 месяцев

Как видим из данных, представленных на диаграмме, спустя 6 месяцев после проведенной процедуры, отмечается тенденция к устойчивому снижению показателей эластометрии по сравнению с предыдущим этапом. Также отмечается относительная стабилизация достигнутых результатов, что может указывать на снижение репарационных процессов и постепенное достижение полной эпителизации. Спустя 6 месяцев после проведенной терапии с использованием аутологичной жировой ткани, отмечается общая тенденция к снижению показателей эластометрии до средних показателей 40-45кПа. По сравнению с исходными данными, полученными до проведения процедуры, показатели также существенно улучшились.

Отмечается снижение показателей от 90-100кПа до начала лечения, до 40-45кПа спустя 6 месяцев. По сравнению с данными, полученными до проведения процедуры, и данными полученными спустя 6 месяцев, показатели улучшились в 2,5 раза. Анализ тренда показывает тенденцию к незначительному дальнейшему

снижению показателей эластометрии и вероятной их стабилизации в достигнутых пределах. На данном этапе уже можно сделать вывод об эффективности лечения.

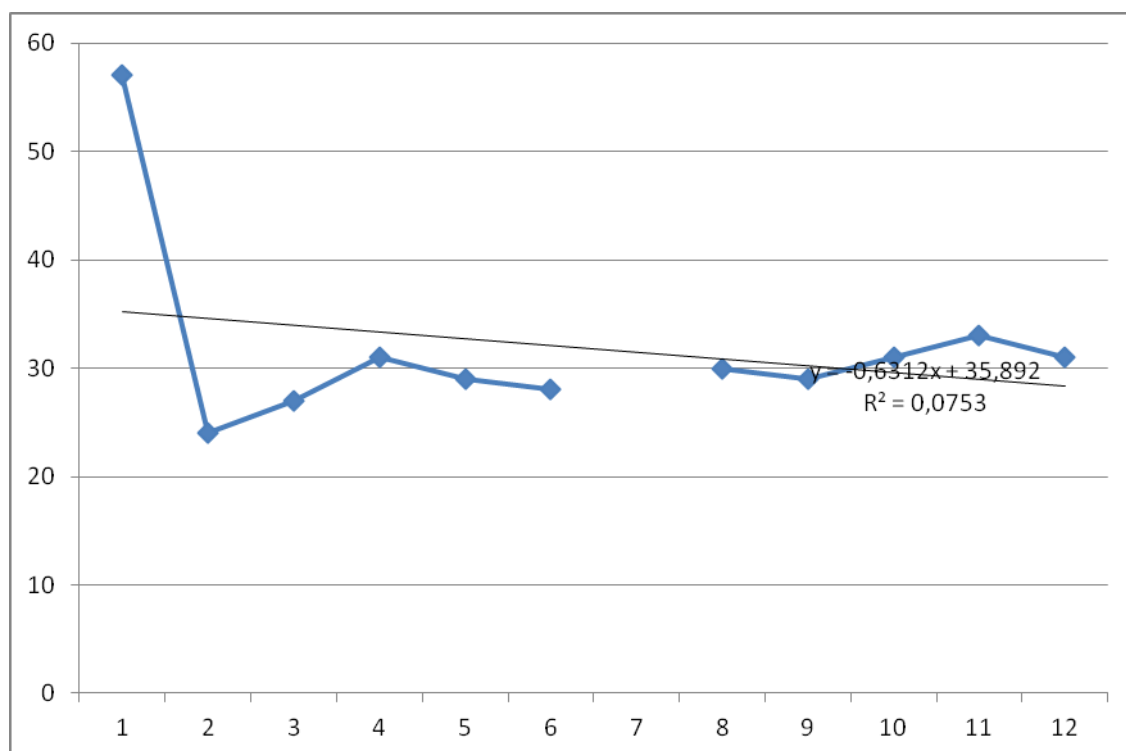


Рисунок 3.16 - Анализ показателей эластометрии в период полной эпителизации ткани

Как видим из данных, представленных на диаграмме, в период полной эпителизации ткани показатели эластометрии существенно улучшились, однако, все еще не достигли нормы. Средние показатели варьируют в пределах от 30кПа до 38кПа. Сохраняется тенденция к снижению показателей эластометрии. Линия тренда указывает на тенденцию к дальнейшему устойчивому снижению показателей эластометрии от 35-40кПа до 25-30кПа. Это может указывать на протекание репарационных процессов, восстановление ткани, заживление. На данном этапе можно сделать вывод об эффективности лечения.

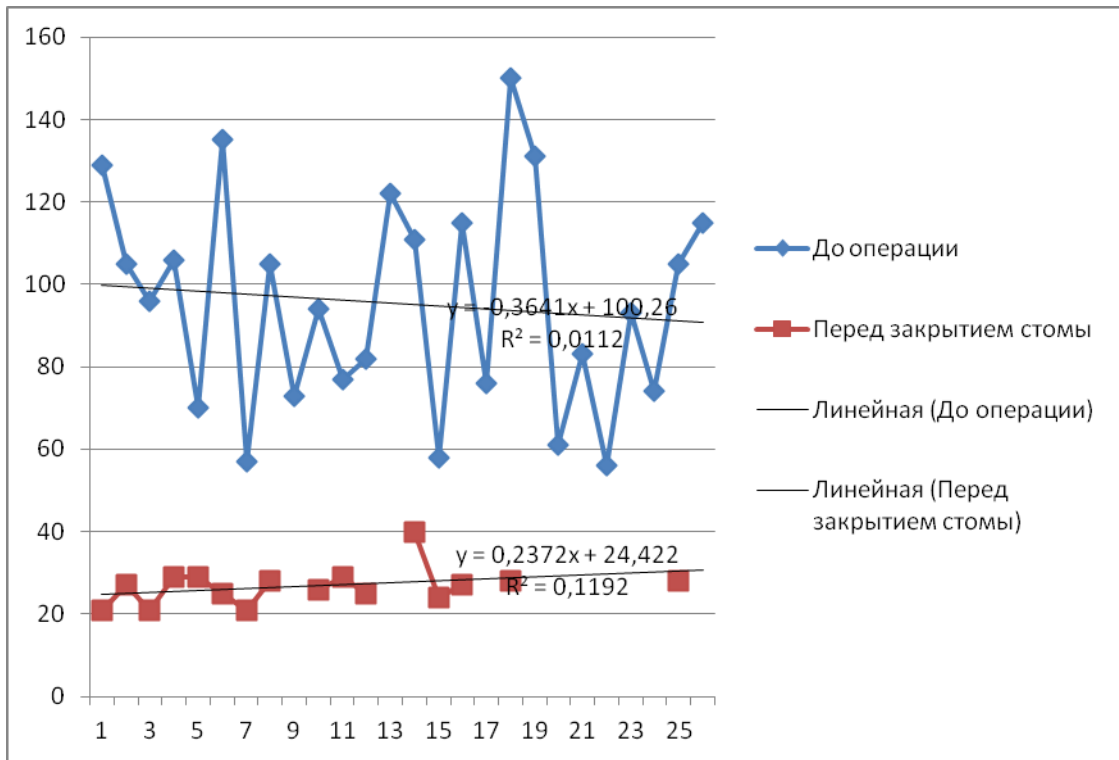


Рисунок 3.17 - Анализ показателей эластометрии перед закрытием стомы

Как видим из данных, представленных на диаграмме, 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 20-30кПа.

По сравнению с исходными данными, полученными до проведения процедуры, показатели также существенно улучшились. Отмечается снижение показателей от 90-100кПа до начала лечения, до 20-30кПа 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 3.18). В промежуточной стадии дефект обычно заполнялся грануляционной тканью. Остаточное отверстие закрылось самопроизвольно. Новообразованная рубцовая ткань прошла стадии пролиферации и ремоделирования, сопровождающиеся эпителизацией.

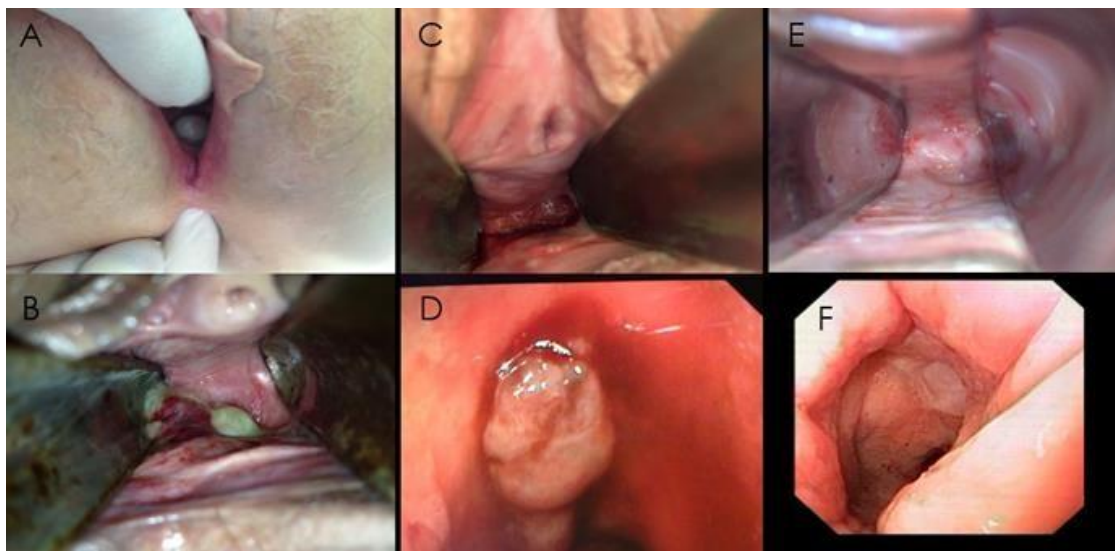


Рисунок 3.18 - Клиническая картина: А - свищ шириной 2 сантиметра; Б - Уменьшение диаметра свища до 0,5 см через 12 недель после процедуры; С - 24 недели после операции, до полного заживления (утечки из прямой кишки во влагалище не наблюдается); D - 24 недели после процедуры до полного заживления, эндоскопический 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. Результаты представлены в таблице 3.16.

Таблица 3.16 - Показатели качества жизни после лечения

Исследуемый параметр	Среднее значение	Минимальный уровень	Максимальный уровень
Спустя 3 месяца после лечения			
Физическое состояние	63±20	10	85
Снижение болевых ощущений	68,5±14	52	100
Репродуктивное здоровье	61,2±9,8	47	92
Удовлетворенность жизнью	69±11	50	90
Социальная активность	67,9±14,4	50	100
Эмоциональное состояние	60,4±34,8	30	100
Ментальное самочувствие	61,8±11,5	44	96
Спустя 6 месяцев после лечения			
Физическое состояние	85,6±7	75	100
Снижение болевых ощущений	88,6±12,2	74	100
Репродуктивное здоровье	63,8±13,3	40	97
Удовлетворенность жизнью	77±12	50	95
Социальная активность	82,8±12,8	62,5	100
Эмоциональное состояние	91,7±22,7	33,3	100
Ментальное самочувствие	73,4±13,2	44	96
Спустя 12 месяцев после лечения			
Физическое состояние	91±7,4	75	100
Снижение болевых ощущений	97,8±9	64	100
Репродуктивное здоровье	66,7±12,7	55	100
Удовлетворенность жизнью	82±15	50	100
Социальная активность	95,3±7,7	75	100
Эмоциональное состояние	87,5±34,1	60	100
Ментальное самочувствие	79,5±17,5	40	100

Как видим из представленных в таблице данных, 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 баллов, спустя 12 месяцев после лечения удовлетворенность жизнью возросла до 82 ± 15 баллов, 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.

Для наглядности данные представлены на рисунке 3.19.

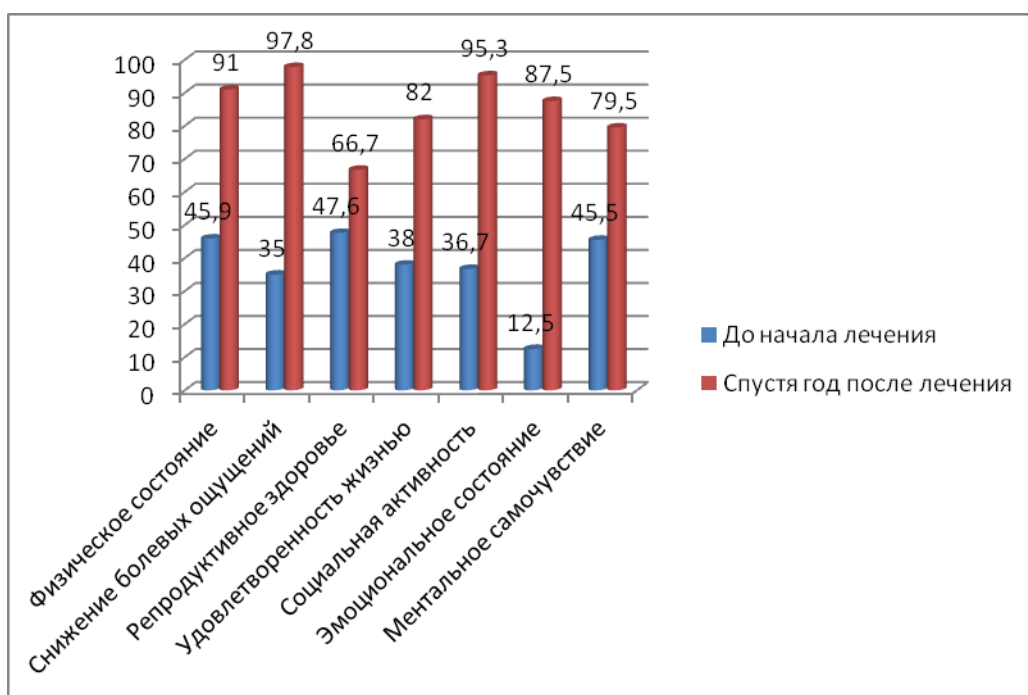


Рисунок 3.19 - Сравнительный анализ качества жизни пациенток до начала лечения и спустя год после проведенного лечения

Как видно из представленных данных, 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 (АД = $21,3 \pm 12,0$ (среднее \pm стандартное отклонение)), отметили значительное улучшение уже через 12 недель (АД = $61,2 \pm 6,1$ (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.

3.3. 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 основной группах. Участники контрольной группы получали лечение с использованием хирургических методов лечения, участники основной 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 (таблица 3.17).

Таблица 3.17 - Количество операций у пациентов контрольной группы

Количество операций	Абсолютное число	Процент пациентов
1	17	51
2	5	15
3	5	15
4	4	12
5	1	3
6	1	3

Как видим из представленных данных, у 51% пациентов контрольной группы в анамнезе была одна операция, однако она закончилась рецидивом, и пациенты нуждаются в повторной операции. У остальных пациенток в анамнезе насчитывается от 2 до 6 операций в анамнезе. При этом во всех случаях стандартный объем хирургического вмешательства заканчивался развитием рецидива дефекта ректовагинальной перегородки.

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 аутоотрансплантации жировой ткани в комбинации со стромально-вазкулярной фракцией (СВФ).

Полученные данные обрабатывались в программе SPSS 21.0. Симметричность выборки определялась при помощи теста Шапиро-Уилка (p менее 0,05 – выборка ассиметричная). Количественные признаки с нормальным распределением описывались средним и стандартным отклонением, с ассиметричным 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. Сравнительные результаты представлены в таблице 3.18.

Таблица 3.18 - Сравнительная характеристика хирургических осложнений при использовании традиционного хирургического и исследуемого методов лечения постлучевых ректовагинальных свищей

Вид осложнения	Группа контроля (n=33)	Экспериментальная группа (n=33)
Острый парапроктит	3,3% (n=1)	-
Острый геморрой, тромбоз геморроидальных узлов	6,6 % (n=2)	-
Нагноение операционной раны	6,6 % (n=2)	3,3% (n=1)
Дизурические расстройства	9,9% (n=3)	-
Резистентные к лечению воспалительные инфильтраты	9,9% (n=3)	-
Болезненные половые акты (диспареуния)	19,8% (n=6)	-
Проявления обструктивной дефекации, неполное опорожнение прямой кишки	23,1 % (n=7)	-
Без осложнений	20,8% (n=9)	96,7% (n=32)
Рецидив	100% (n=33)	0 % (n=0)
Всего:	79,2% (n=24)	3,3% (n=1)

Как видим из представленных данных, 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 kPa).

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 ($p=0,0001$). Для наглядности данные представлены на рисунке 3.20.

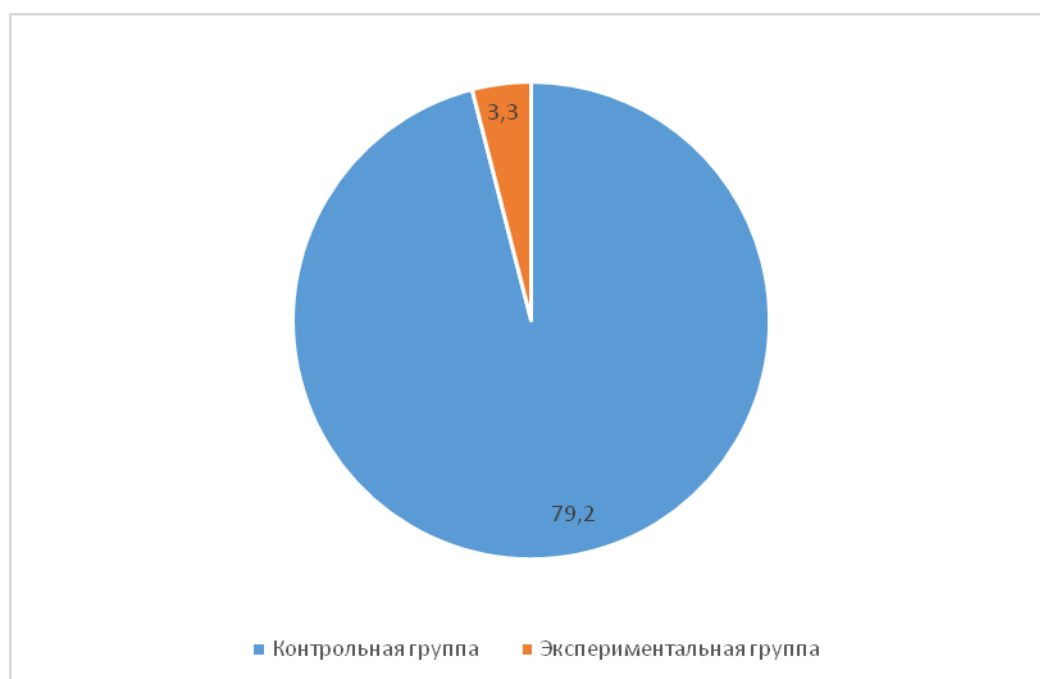


Рисунок 3.20 - Частота осложнений в контрольной и основной группах

Как видим, 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 для их разрешения, в то время как в исследуемой группе был зафиксирован лишь один случай инфекции зоны липосакции, разрешившийся консервативно.

Следовательно, риск развития осложнений и рецидивов при применении хирургических методов довольно высок. Полученные нами результаты соотносятся с литературными данными. Безопасность и эффективность липографтинга и инъекций стромально-васкулярной фракции жировой ткани в лечении поздних лучевых повреждений мягких тканей была продемонстрирована в ряде клинических исследований [20, 22]. Авторами этих исследований был отмечен минимальный риск развития осложнений при использовании данных методов. Это объяснялось наличием у жировой ткани регенераторных свойств за счет присутствия в ней пула стромальных клеток, в том числе мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток [21]. Аутологичная трансплантация жировой

ткани и стромально-васкулярной фракции является экономически эффективным и технически доступным вариантом для клеточной терапии [10] и альтернативой хирургическому методу

В литературе также показано, что регенеративный подход активно используется и в лечении различных дефектов прямой кишки. В частности, хорошие результаты продемонстрированы для лечения посттравматических дефектов и свищей при болезни Крона [10, 11, 20].

Средний возраст пациенток составляет 54 ± 10 лет. Эти данные сопоставимы с литературными данными, где отмечается средний возраст 49 ± 3 года [38]. 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%.

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.

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.

После проведенного лечения отмечается тенденция к улучшению состояния. Так, если до процедуры средние размеры свищей и язв составляли

1,67±0,54 см в диаметре, то через 3 месяца эти показатели составили 1,39±0,54, а через 6 месяцев – 1,1±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.

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.

Было установлено, что у пациенток с лучевой язвой полной эпителизации удалось достичь уже через 6 месяцев (77,5% пациенток). Тогда как у пациенток с ректовагинальным свищем, полная эпителизация у большинства пациенток наступала только спустя 1 год (63% пациенток). У пациенток с постлучевой язвой все дефекты были полностью эпителизованы в период от 6 до 12 месяцев (случаи заживления дефекта спустя 1 год отмечались у 22,5%). У пациенток с ректовагинальным свищем у 1 пациентки (4%) с наиболее сложной патологией, полная эпителизация дефекта наступила через 2 года. Определенные опасения представляет линия тренда в исследовании постлучевых язв, которая показывает тенденцию 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 своевременно принять необходимые меры.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

Нами был проведен сравнительный анализ состояния пациентов с постлучевыми повреждениями до проведения лечения, и после, а также была оценена роль микроинъекционной аутотрансплантации тканей в лечении постлучевых повреждений прямой кишки. Об отдаленных результатах и эффективности лечения судили по изменению основных биохимических, иммунологических показателей. Постлучевые повреждения прямой кишки, как и любые другие лучевые повреждения, характеризуются длительностью процесса заживления, тенденцией к прогрессированию заболевания, истощением слизистых оболочек, нарушением микрофлоры. Это связано с тем, что все постлучевые повреждения протекают со снижением функции иммунной системы. Это обусловлено нарушением обмена веществ и интоксикацией организма. В отчасти, это также связано с тем, что во время травматического повреждения, надпочечники выделяют большое количество гормонов, которые угнетают функцию иммунной системы.

При любой травме, в том числе, лучевой, степень подавления защитных сил организма, в целом, пропорциональна объему повреждения тканей. Продукты, выделяемые некротизированными клетками, вызывают активацию моноцитов и макрофагов. В результате указанные клетки секретируют в избытке провоспалительные цитокины (интерлейкин-1 (ИЛ-1), ФНО и др.), поступающие в системный кровоток и вызывающие транзиторное состояние «иммунного паралича» (апоптоз клеток-мишеней, экспрессирующих рецепторы фактора

некроза опухолей, снижение экспрессии АГ-представляющих молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) II класса на моноцитах и макрофагах).

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 исследовании пациентов с постлучевыми повреждениями до лечения, нами было установлено, что связанные с лучевым повреждением иммунные дефекты могут проявляться в лимфопении, снижении выработки цитокинов и активности НК-клеток, угнетении хемотаксиса и фагоцитоза. При обширных лучевых повреждениях, основной механизм, ответственный за развитие абсолютной лимфопении и иммунной гипореактивности, связан с активацией апоптоза. Развивается дефицит специфического иммунного ответа (подавление функции и пролиферации Т-лимфоцитов).

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.

Лучевые повреждения сопровождаются интоксикацией продуктами распада опухоли, участками некроза. При таких интоксикациях циркулирующие токсические вещества вызывают нарушение иммунного ответа. Потеря иммуноглобулинов и белков комплемента увеличивает частоту бактериальных инфекций, что приводит к развитию гнойно-септических, катаральных нарушений. Для пациентов с постлучевыми повреждениями прямой кишки, характерно подавление функций Т-лимфоцитов, угнетение синтеза антител и активности нейтрофилов, нарушение функции рецепторов к Fc-фрагменту IgG.

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.

У лиц с постлучевым повреждением, до проведения лечения, отмечалось нарушение метаболических процессов, что приводит к повышению уровня эндогенных глюкокортикоидов. Также необходимо учитывать, что лучевая нагрузка вызывает нарушение клеточного деления, мутации и активацию апоптоза в клетках иммунной системы, вследствие чего развивается повышенная восприимчивость к инфекциям. Дозозависимое снижение количества циркулирующих в кровотоке лимфоцитов наблюдается уже в первые сутки после облучения. Это сопровождается снижением защитных функций слизистых оболочек, иммунодефицитным состоянием, нарушениями микрофлоры, нарушением способности тканей к регенерации.

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.

Также нами было установлено, что лучевая нагрузка сопровождается активацией образования антител, которые представлены иммуноглобулинами четырех классов – IgA, IgM, IgG, IgE. Отмечается наличие коррелятивной связи между изменениями концентрации в крови иммуноглобулинов и циркулирующих иммунокомплексов. Установлено наличие достоверной ($p < 0,05$) сильной связи (коэффициент корреляции $r = 0,963$) между циркулирующими иммунокомплексами и IgG в сыворотке крови. Эту связь, очевидно, можно объяснить тем, что иммуноглобулины класса G в большей степени, чем другие иммуноглобулины участвуют в образовании циркулирующих иммунных комплексов. Высокая, но недостаточно достоверная связь обнаружена между IgA и циркулирующими иммунокомплексами ($r = 0,949$).

Тесная связь выявлена также между IgA и IgM ($r = 0,944$). Несколько слабее связь (средней силы) установлена между IgM и циркулирующими иммунокомплексами ($r = 0,805$) и IgA и IgG. Еще слабее, но тоже средней силы установлена связь между IgM и IgG ($r = 0,676$). Очевидно, что в последнем случае сила связи между этими факторами зависит еще от определенных неизученных на сегодня факторов. В целом наличие указанных связей свидетельствует, что все эти звенья иммунной системы тесно связаны между собой и стереотипно реагируют на присутствие лучевую нагрузку в организме.

Хроническое воспаление, которым зачастую сопровождаются лучевые повреждения, характеризуется выраженным увеличением активности тучных клеток и гуморального иммунитета, связанного с продукцией иммуноглобулинов класса IgM, IgG, IgA и продукцией IL-10, снижением T - клеточного иммунитета и функций макрофагов. Одновременно меняется оксидативный/антиоксидативный статус, что проявляется сдвигом в сторону преобладания продуктов перекисного окисления липидов (малоновый альдегид, диеновые конъюгаты, основания Шиффа) и снижением активности антиоксидантных систем крови (глутатионпероксидаза, восстановленный

глутатион, каталаза). Местные проявления хронического воспаления соединительной ткани состоят в развитии микроангиопатий, что нередко сопровождается ректальными кровотечениями.

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.

У пациентов с лучевыми повреждениями прямой кишки, достоверно увеличивается количество лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови при возрастании вязкости крови и уровня фибриногена. Одновременно наблюдается незначительный рост СОЭ, средней концентрации уровня гемоглобина и пламиногена, отмечена тенденция к увеличению щелочного резерва крови. Показатель гематокрита незначительно снижается, так же как уровень гемоглобина и содержание гемоглобина в одном эритроците. Количество эритроцитов и средний объём эритроцита у клинически здоровых и больных пациентов практически не изменяется.

Следовательно, изменение клинических показателей крови свидетельствует об обострении хронического воспалительного процесса, подразумевающего деструктивный характер процесса и, возможно, развитие иммунодефицита. Для детализации воспалительного процесса нами была исследована лейкоцитарная формула пациентов с постлучевыми повреждениями. Так, в периферической крови достоверно повышается число эозинофилов и лимфоцитов при одновременном снижении сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов. Миелоциты и юные лейкоциты не выявляются. Эти данные также подтверждают наличие обострения хронического воспалительного процесса.

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.

При исследовании основных биохимических показателей, обращает на себя внимание достоверное повышение в крови общего белка, амилазы, холестерина и снижение уровня альбумина, креатинина, а также активности креатинкиназы. Одновременно отмечено отсутствие достоверных изменений уровня глюкозы, щелочной и кислой фосфатаз, гамма-глутамилтрансферазы. Показатели активности аланин- и аспаратаминотрансфераз – ферментов сыворотки крови, изменение уровня которых является одним из наиболее ранних и надежных показателей паренхиматозного повреждения печени, – достоверно не менялись. При этом резко сдвигался спектр глобулинов крови вправо, то есть регистрировали достоверное увеличение всех групп глобулинов, особенно группы α_1 и γ , что характерно для заболеваний с иммунодефицитом, нарушением репарационных процессов.

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 α_1 и γ , что говорит о нормализации функции иммунной системы, нормализации репарационных процессов.

У лиц с постлучевыми повреждениями прямой кишки, изменяются показатели фагоцитоза: достоверно увеличиваются фагоцитарное число и фагоцитарный индекс. Одновременно с этим отмечено достоверное снижение показателя завершённости фагоцитоза, фагоцитарного показателя. У лиц с лучевыми повреждениями повышалось содержание ЦИК, В - лимфоцитов, β -лизинов, уровень лизоцима, а также активность комплемента. Уровень Т-супрессоров достоверно снижался, в то время как количество Т-хелперов достоверно увеличивалось. При изучении НСТ-теста (спонтанного и стимулированного) отмечено их достоверное увеличение. Существенно возрастал лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), ядерный индекс (ЯИ) снижался в 2,5 раза, соотношение нейтрофилы/лимфоциты (Н/Л) резко увеличивалось, показатель повреждения нейтрофилов (ППН) у больных также умеренно возрастал.

Приведенные данные характеризуют процесс напряжения иммунитета, характерный для вторичного иммунодефицита. Нарушается нормальное состояние антиоксидантной системы защиты и перекисного окисления липидов. Повышение показателей антиоксидантной защиты, по-видимому, является реакцией на деструктивные процессы в мембранах клеток воспаленных тканей, о чем говорят повышенные уровни показателей перекисного окисления липидов.

После проведенного лечения с использованием СВФ, нормализуются показатели фагоцитоза: достоверно снижается фагоцитарное число и фагоцитарный индекс. Одновременно с этим отмечено достоверное повышение показателя завершённости фагоцитоза, фагоцитарного показателя. После проведенного лечения снижалось содержание ЦИК, В - лимфоцитов, β -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 перекисного окисления липидов.

Иммуногистохимическим методом проведено исследование содержания CD-3 и CD-79 лимфоцитов в тканях лиц, страдающих постлучевыми повреждениями. Выявлено достоверное увеличение содержания CD-3 и CD-79 лимфоцитов, расположенных диффузно в ткани. Повышение количества CD-3 лимфоцитов указывает на гиперактивность иммунитета и возможное наличие иммунопролиферативных заболеваний. В нашем случае наблюдали отчётливую тенденцию к очаговому скоплению CD-3 в воспалённой ткани.

Активация CD-79 клеток может быть вызвана изменёнными собственными белками (коллагеном, иммуноглобулинами), вследствие чего увеличивается число клеток, способных реагировать с введенным в организм антигеном. Следовательно, при хроническом течении постлучевых повреждений прямой кишки, происходит активация эффекторного звена гуморального иммунного ответа.

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.

У лиц с постлучевыми повреждениями, отмечается активация CD-79 клеток может быть вызвана изменёнными собственными белками (коллагеном, иммуноглобулинами), вследствие чего увеличивается число клеток, способных реагировать с введенным в организм антигеном. Следовательно, при хроническом

течении постлучевых повреждений прямой кишки, происходит активация эффекторного звена гуморального иммунного ответа.

Лучевые повреждения сопровождаются снижением содержания в крови гемоглобина, лейкоцитов и тромбоцитов. Так, в нашем исследовании, средняя концентрация гемоглобина у лиц с постлучевыми повреждениями прямой кишки, составляет 123,2 г/л (SD=18,3). Среднее от минимальных значений = 109,2 г/л (SD=18,1). Примерно у 61,9% пациентов развивается анемия: у 43,7% больных — I степени по RTOG Acute Toxicity Criteria, у 16,9% — II степени, у 2% — III степени (анемия, больше связанная с почечной недостаточностью). Анемия I и II степеней легко купируется с помощью назначения препаратов железа и поливитаминов, III степени — переливанием крови (анемия не является причиной прекращения лечения).

Среднее число лейкоцитов у лиц с постлучевыми повреждениями прямой кишки составляет $6,2 \times 10^9/\text{л}$ (SD= $2,8 \times 10^9/\text{л}$). Среднее от минимальных значений = $4,1 \times 10^9/\text{л}$ (SD= $2,3 \times 10^9/\text{л}$). Всего у 32,3% больных зарегистрирована лейкопения той или иной степени. У 67,6% больных содержание лейкоцитов в периферической крови не опускалось ниже нормальных показателей.

С целью определения острой гематологической токсичности, нами было исследовано содержание тромбоцитов в периферической крови. Среднее число тромбоцитов до начала лечения составило $297,6 \times 10^9/\text{л}$ (SD= $32,8 \times 10^9/\text{л}$). Среднее от минимальных значений было $211,3 \times 10^9/\text{л}$ (SD= $2,3 \times 10^9/\text{л}$). Всего у 26,7% больных зафиксирована тромбоцитопения: I степени — у 20,4% больных, II степени — 6,3% случаях. Тромбоцитопении III–IV степени не наблюдалось. У 72,3% больных содержание тромбоцитов в периферической крови не опускалось ниже нормальных показателей.

Нами была проанализирована ранняя гематологическая токсичность радиотерапии. Одной из часто встречающихся реакций была тошнота/рвота, которая в некоторых случаях значительно снижала качество жизни пациентов, способствовала снижению массы тела, ухудшению общего состояния. Острая гастроинтестинальная токсичность I и II степени зарегистрирована в 29,6% и

13,4% случаях соответственно. Не было зафиксировано ни одного случая III–IV степени тяжести.

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.

В плазме крови у лиц с постлучевыми повреждениями прямой кишки, выявлено повышение уровня провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-18, ИЛ-2 и ИНФ α и снижение уровня ИЛ-10 при повышении уровня ИЛ-4 и РАИЛ). У лиц с постлучевыми повреждениями выявлено снижение активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови (снижение фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа) при повышении их кислородзависимой активности, кроме этого в плазме крови возрастает концентрация С3, С3а, С4, С5, С5а и регуляторов – фактора Н и С1-инг.

После проведенного лечения, отмечается тенденция к нормализации уровня провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8), ИЛ-18, ИЛ-2 и ИНФ α 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 ФНО α , ИЛ-10, С4-компонента системы комплемента и С1-ингибитора. У некоторых пациентов выявлено существенное повышение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и TNF- α 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.

Необходимо отметить, что 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. Было установлено, что высокое содержание CD45R0-позитивных клеток в периферической крови зачастую является показателем активного воспалительного процесса. Чем выше разрыв между CD45R0-позитивными и CD45RA-позитивными клетками, тем интенсивнее проявляет себя воспаление и тем вероятнее возникновение осложнений после проведения оперативного вмешательства. 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.

4.2. 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 4.1).

Таблица 4.1 - Характеристика используемой стромально-васкулярной фракции

	Среднее значение	Минимальное значение	Максимальное значение
Возраст пациенток (лет)	54	39	72
V жира общий, мл.	47	15	67
V на центрифугирование, мл.	50		

Продолжение таблицы 4.1

V центрифугирования на процедуру, мл.	31,8	35	41
V после центрифугирования процедура, мл.	26,4	30	34
% масла после центрифугирования	14,61	12,82	21,95
V центрифугирования на исследование, мл.	15	15	15
V после центрифугирования на опыт, мл.	10	10	10
V масла на процедуру, мл.	2,75	2	3
V масла после переваривания, мл.	14,25	16	21
V после отстаивания 60 мин, мл.	40,85	21	55
V ресуспенд на процедуру, мл.	5,74	1,3	6,8
V ресусп комби, мл.	3,57	1	7
V на исследование комби, мл.	1	1	1
V ресусп ручн, мл.	5,87	1,5	7
V для клеточности, мл.	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	67	68	94,4

метод),%			
----------	--	--	--

Жировую ткань получали с использованием различных методов и фирм производителей - INVITROGEN и НаноФэт.

Основными характеристиками является клеточность и жизнеспособность ткани.

Рассмотрим основные характеристики СВФ (INVITROGEN).

При анализе клеточности и жизнеспособности СВФ, нами были установлены основные значения. Данные представлены в таблица 4.2.

Таблица 4.2 - Характеристика клеточности и жизнеспособности СВФ

	Возраст	Жизнеспособность	Клеточность Общ	КлетЖизн есп	ИМТ
Среднее	53,88	81,953	449208,47	391967,56	28,088
Стд. отклонение	10,419	6,7206	230501,987	212095,864	4,7433
Минимум	31	61,9	93500	84898	20,4
Максимум	78	90,8	880000	968000	37,0

Таблица 4.3 - Жизнеспособность клеток СВФ

	N	Среднее	Стд. отклонение	Стд. Ошибка	95% доверительный интервал для среднего		Минимум	Максимум
					Нижняя граница	Верхняя граница		
живот	20	82,000	6,3951	1,4300	79,007	84,993	67,8	90,8
фланки	6	83,667	5,9075	2,4117	77,467	89,866	73,0	88,9
наружные бедра	4	79,050	11,5000	5,7500	60,751	97,349	61,9	86,5
внутренние бедра	1	81,700	81,7	81,7
спина	1	82,600	82,6	82,6
Итого	32	81,953	6,7206	1,1880	79,530	84,376	61,9	90,8

Как видим из таблицы 4.3, 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 (таблица 4.3).

Как видим из таблицы 4.3, максимальные показатели жизнеспособности клеток наблюдаются при использовании жировой ткани, полученной из спины ($83,667 \pm 5,9$), живота ($82 \pm 6,3$) и фланок ($83,667 \pm 5,9$). 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 общей клеточности. Проведенный однофакторный дисперсионный анализ показателей общей клеточности и клеточной жизнеспособности также позволяет заключить, что статистически значимых различий общей клеточности и клеточной жизнеспособности в зависимости от донорской зоны получено не было ($p=0,619$). Данные представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 - Клеточность общая (СВФ)

	N	Среднее	Стд. отклонение	Стд. Ошибка	95% доверительный интервал для среднего		Минимум	Максим ум
					Нижняя граница	Верхняя граница		
живот	20	440915,80	212861,556	47597,291	341293,53	540538,07	93500	800000
фланки	6	534272,83	220531,599	90031,648	302839,11	765706,55	225000	872300
наружные бедра	4	466047,25	362608,596	181304,298	-110943,94	1043038,44	135000	880000
внутренние бедра	1	337600,00	337600	337600
спина	1	148929,00	148929	148929
Итого	32	449208,47	230501,987	40747,379	366103,64	532313,30	93500	880000

Далее нами были проанализированы основные показатели жизнеспособности, общей клеточности и клеточной жизнеспособности в зависимости от возраста донора жировой ткани (таблица 4.4). 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 ($p=0,775$). Данные представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Жизнеспособность клеток СВФ

	N	Среднее	Стд. отклонение	Стд. Ошибка	95% доверительный		Минимум	Максимум
					интервал для среднего			
					Нижняя граница	Верхняя граница		
до 40 лет	2	82,950	6,4950	1,3500	78,503	87,397	82,6	83,3
40-60 лет	25	82,660	6,7748	1,3550	79,863	85,457	61,9	90,8
более 60 лет	5	78,020	7,1852	3,2133	69,098	86,942	67,8	85,7
Итого	32	81,953	6,7206	1,1880	79,530	84,376	61,9	90,8

Таблица 4.6 - Клеточность общая

	N	Среднее	Стд. отклонение	Стд. Ошибка	95% доверительный интервал для среднего		Минимум	Максимум
					Нижняя граница	Верхняя граница		
до 40 лет	2	383250,00	1060,660	750,000	373720,35	392779,65	382500	384000
40-60 лет	25	478247,56	250052,345	50010,469	375031,02	581464,10	93500	880000
более 60 лет	5	330396,40	107322,547	47996,102	197137,86	463654,94	178333	451961
Итого	32	449208,47	230501,987	40747,379	366103,64	532313,30	93500	880000

Далее нами были проанализированы основные показатели СВФ, полученной методом Нанофэт. Основные характеристики ткани представлены в таблице 4.6.

Как видим из таблицы, средний возраст донора составляет 45 ± 4 года, средние показатели клеточности составляют $3728000,00 \pm 2239982,143$, средние показатели жизнеспособности - $67,300 \pm 13,95$, средние показатели клеточной жизнеспособности составляют $2702924,00 \pm 2037498,601$.

Далее нами были проанализированы основные показатели жизнеспособности, общей клеточности и клеточной жизнеспособности в зависимости от возраста донора жировой ткани (таблица 4.7). Статистически значимых различий жизнеспособности, клеточности и общей клеточной жизнеспособности в зависимости от возраста или донорской зоны получено не было ($p=0,374$).

Таблица 4.7 - Характеристика СВФ, полученной на аппарате Нанофэт

	Возраст	Клеточность	Жизнеспособность	Клетки Живые	Размер Клеток	Отклонение Размера
N	Валидные	5	5	5	5	5
	Пропущенные	0	0	0	0	0
Среднее		45,60	3728000,00	67,300	2702924,00	11,760
Стд. Ошибка среднего		1,833	1001750,468	6,2408	911197,075	,0678
Медиана		44,00	2290000,00	67,800	1330000,00	11,700
Стд. Отклонение		4,099	2239982,143	13,9547	2037498,601	,1517
Процентили	25	42,00	2075000,00	53,950	1202310,00	11,650
	50	44,00	2290000,00	67,800	1330000,00	11,700
	75	50,00	6100000,00	80,400	4890000,00	11,900

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.

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

Сначала нами были изучена исходная морфологическая картина у пациенток с постлучевыми повреждениями прямой кишки. У пациентов с постлучевыми повреждениями прямой кишки, отмечаются морфологические признаки микроангиопатии в виде мукоидного набухания, плазматического пропитывания сосудистой стенки, утолщения интимы, склероза и редукции сосудов выявлено во всех исследуемых препаратах. Признаки васкулопатии сосудов микроциркуляторного русла определялись в 52% препаратов. В них преобладали продуктивные капилляриты. Тромбозы капилляров и венул обнаружены в 36% препаратов. Поражение сосудистого русла было

генерализованным и носило продуктивный характер. Продуктивный васкулит был выявлен в 58% случаев, тромбоваскулит 40% случаев, панваскулит в 2%. Стенки кровеносных сосудов отёчны, разрыхлены, гомогенизированы, с явлениями плазморагии и участками фибриноидного некроза. По ходу сосудов в тканях располагаются клеточные инфильтраты, проникавшие в стенки сосудов и состоящие из нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов, гистиоцитов, реже веретенообразных, эпителиоидных и плазматических клеток. Местами инфильтраты окружали сосуды широким кольцом в виде муфт. Среди воспалительного инфильтрата часто обнаруживались разрушенные клетки и распад ядер лейкоцитов (феномен «лейкоклазии»). В некоторых срезах обнаруживались полнокровие сосудов и явления фибриноидного некроза.

Эндотелий отечный набухший, что приводит к облитерации просвета сосуда. В стенке сосудов и окружающих тканях выявлены участки фибриноидного некроза. Воспалительная реакция характеризуется клеточной инфильтрацией, захватывающей не только область некроза, но и неповрежденную зону. Клеточный состав инфильтрата представлен в основном полиморфноядерными лейкоцитами, ядра которых либо без изменений, либо в состоянии пикноза. Иногда встречаются «голые» ядра и хроматиновый пылевидный распад.

При гистологическом исследовании обнаружена воспалительная реакция мелких вен и артерий, эндотелий сосудов набухший, местами отсутствует; наблюдается утолщение стенок венозных сосудов, участки с пролиферацией эндотелия; стенки сосудов разрыхлены, густо инфильтрированы лимфоцитами с небольшим количеством нейтрофилов, гистиоцитов и фибробластов; вне сосудов обнаруживаются эритроциты и мелкозернистый коричневый пигмент; в отдельных сосудах определяются участки фибриноидного некроза с гомогенизацией стенки и наличием пристеночных тромбов.

Далее 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. Типичные изменения гистологической структуры представлены на рисунках 4.1.-4.7.

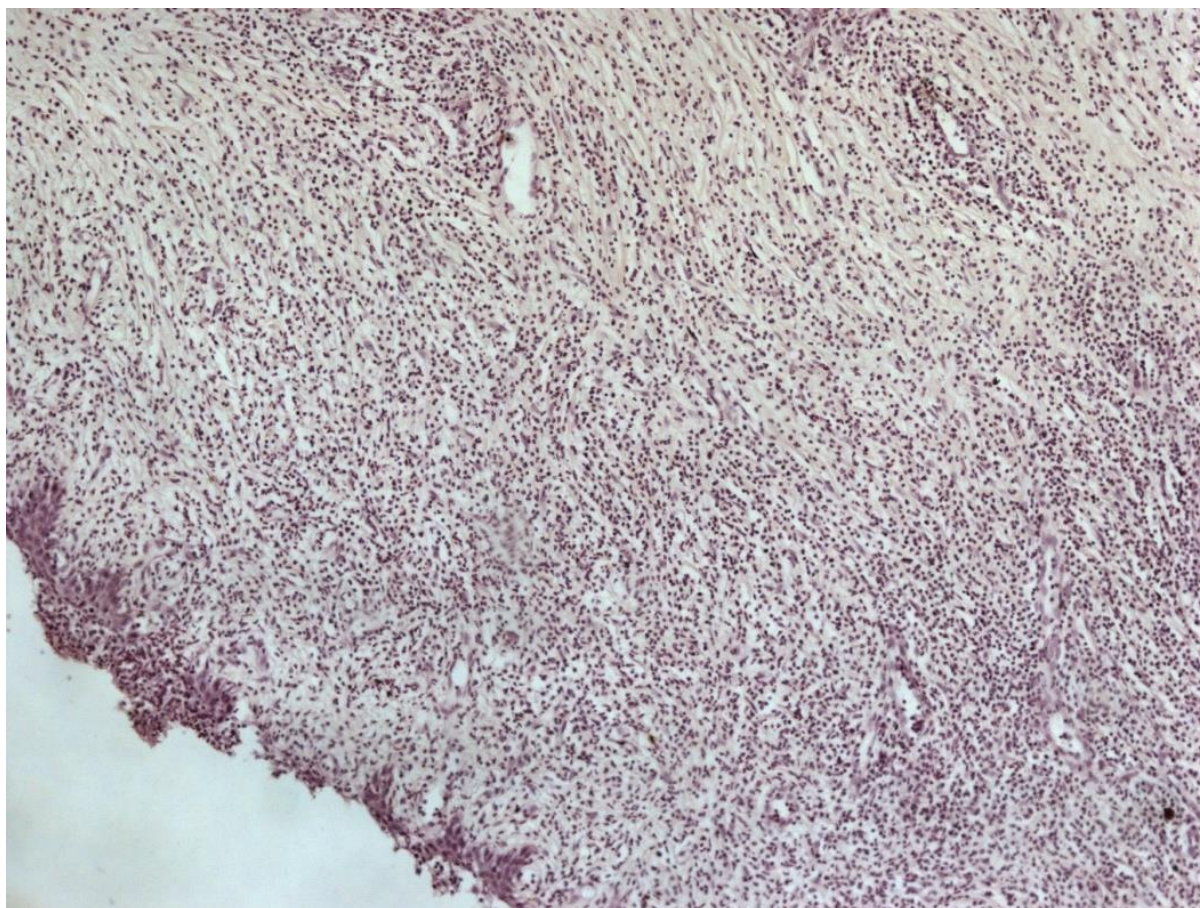


Рисунок 4.1 - Типичная гистологическая структура стенки лучевого фиброно-язвенного дефекта. Окраска: гематоксилин – эозин. Увеличение 400.

Как видно из рисунка, в типичной картине фиброно-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 (рисунок 4.2).

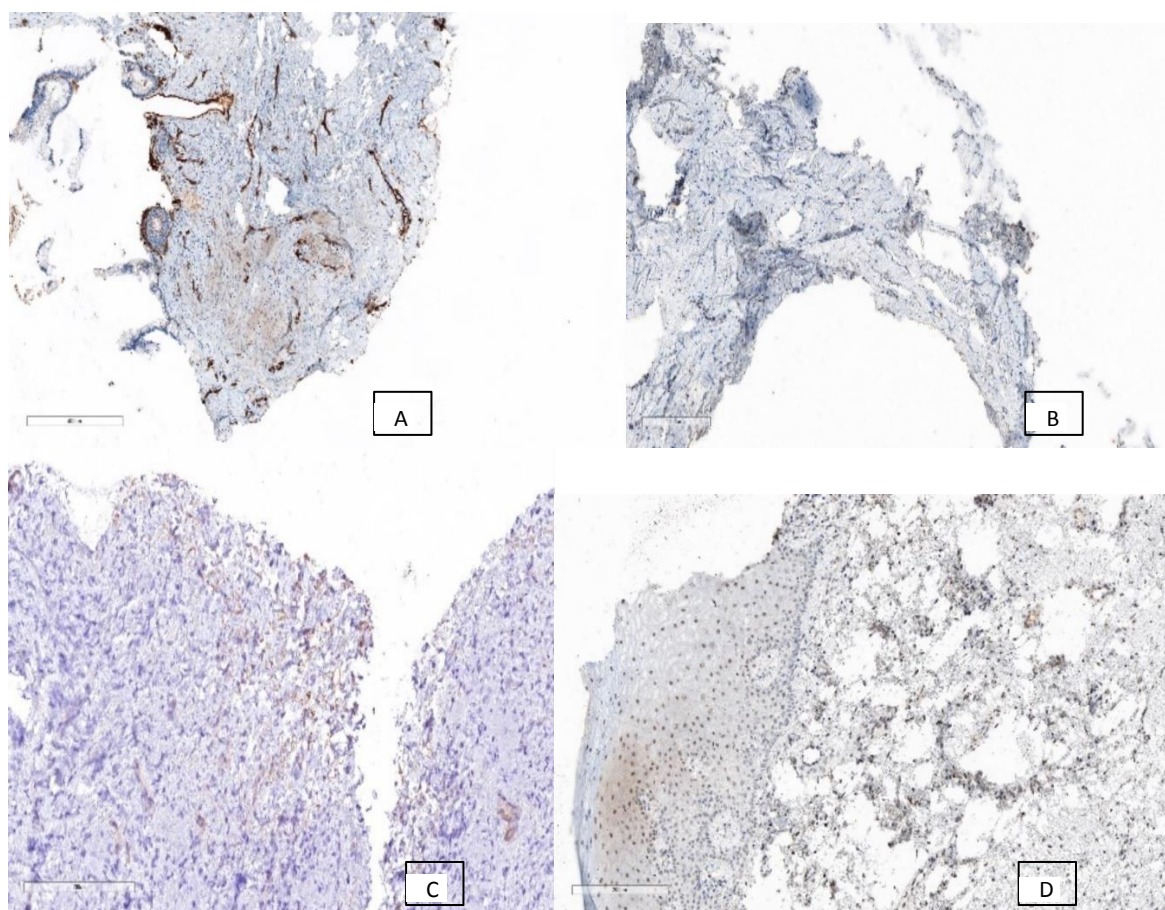


Рисунок 4.2 - Динамика морфологических и гистологических изменений, происходящих в патологически измененных тканях после введения продуктов СВФ. А.В. Экспрессия CD 68. Увеличение 400. С.Д. Экспрессия CD 31 Увеличение 400.

Данная гистологическая структура соответствует клинической картине постлучевой язвы. На верхних рисунках прослеживается CD 68 ядерная экспрессия на фибробластах и макрофагах, инфильтрирующих соединительную ткань. На нижних рисунках представлена экспрессия маркера CD 31 на эндотелии артериол, венул и капилляров. Изображения окрашены с использованием гематоксилна и эозина, *200 увеличение.

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

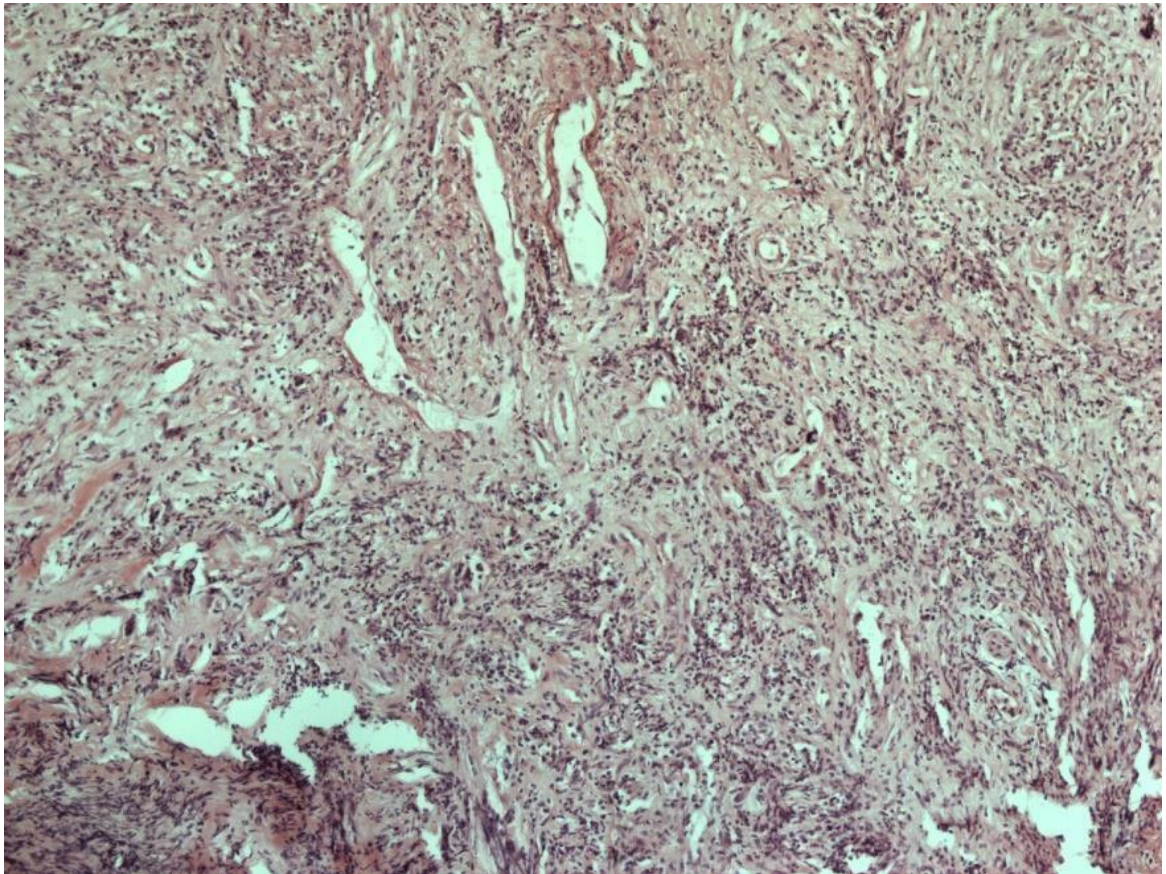


Рисунок 4.3 - Грануляционная ткань (1-3 месяца после липографтинга). Окраска: Ван-Гизон. Увеличение 400.

Как видим из представленных данных, на промежуточной стадии плотность сосудов увеличивается. Наблюдается полиморфно-клеточный элемент инфильтрата с примесью фибробластов, появляется тропоколлаген. Также в ткани появляются многоядерные макрофаги (рисунок 4.4), что указывает на очищение тканей от остатков нежизнеспособных тканей.

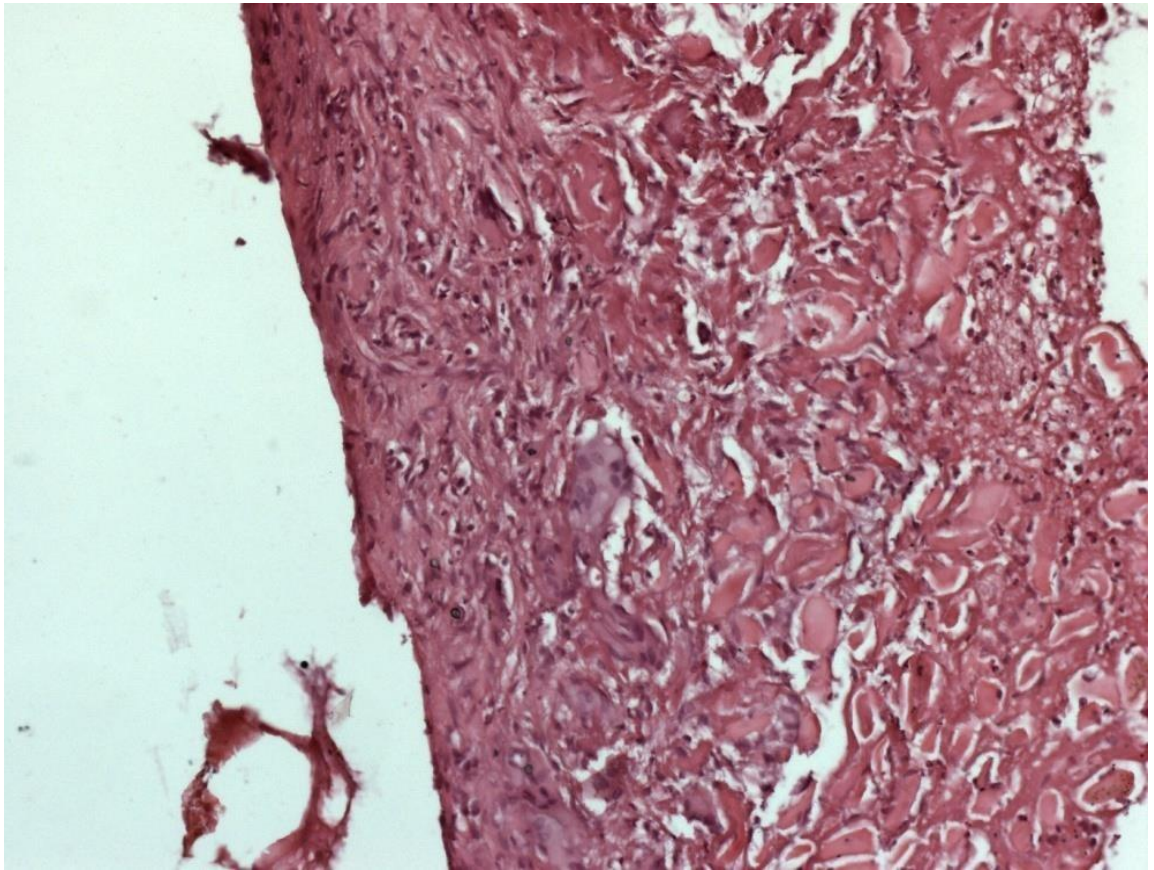


Рисунок 4.4 - Формирование грануляционной ткани. Окраска: Ван-Гизон. Увеличение 400.

Прослеживается появление многоядерных макрофагов, формирование тканевой структуры

Как видим, на данном этапе начинается формирование тканевой структуры, близкой к предшествующей. Спустя 4-9 месяцев после начала формирования первых грануляций формируется тканевая архитектоника, близкая к нормальной тканевой структуре (рисунок 4.5).

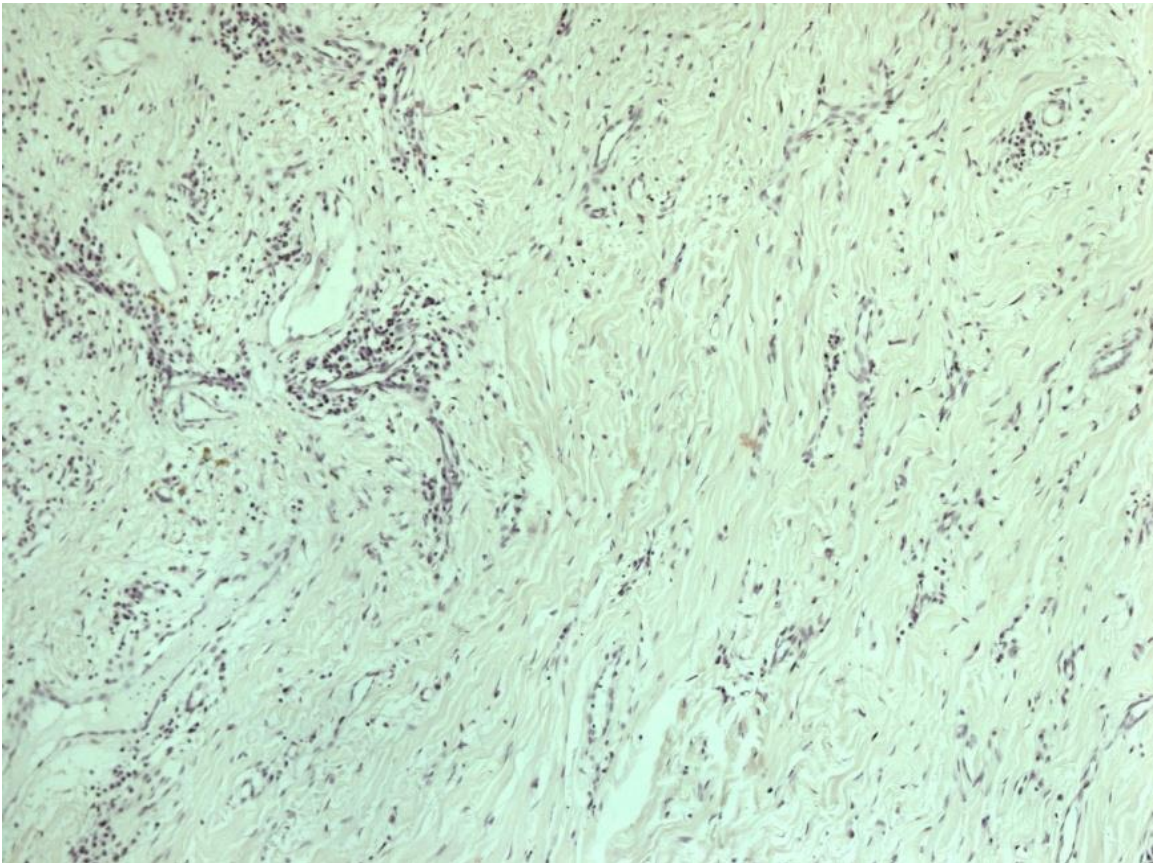


Рисунок 4.5 - Формирование тканевой архитектоники, близкой к нормальной тканевой структуре Окраска: гематоксилин – эозин. Увеличение 400.

Как видим, на данном этапе прослеживаются коллагеновые волокна, множественные сосуды. Появляется малая клеточность (рисунок 4.6)

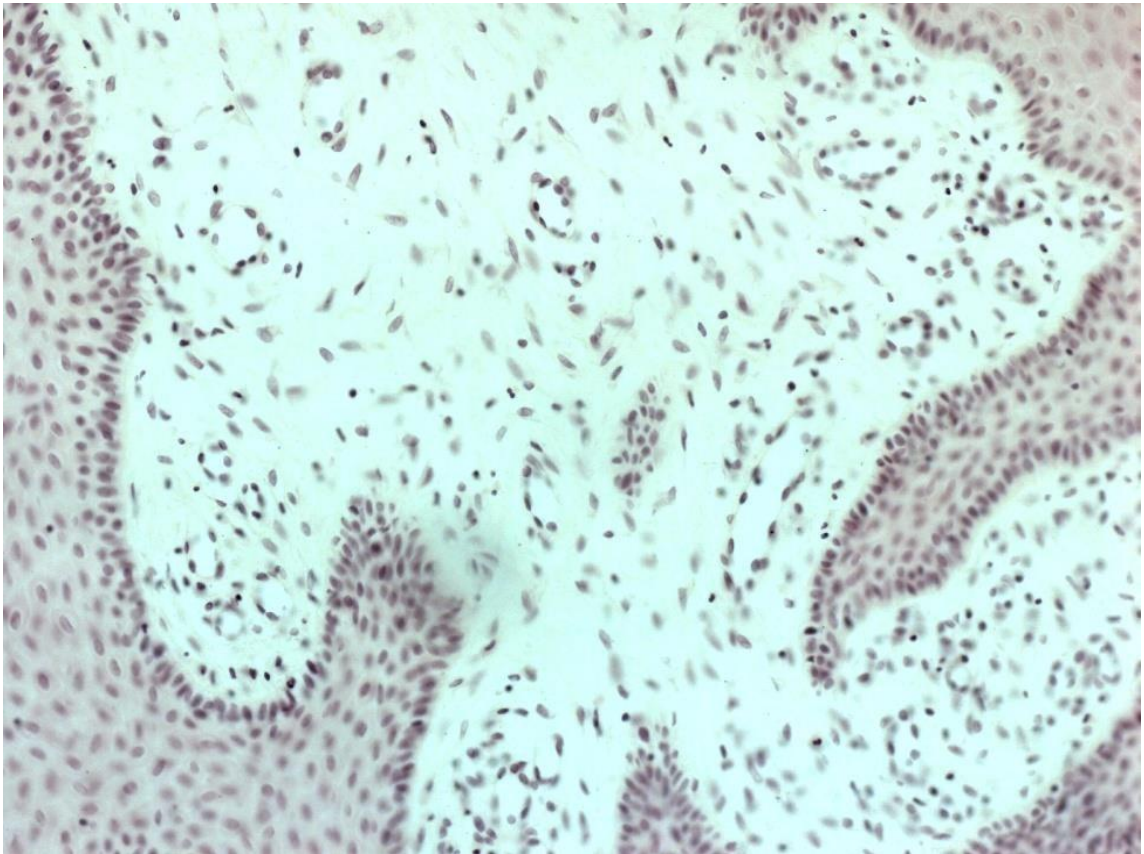


Рисунок 4.6 - Тканевая архитектура, приближенная к нормальной тканевой структуре. Окраска: гематоксилин – эозин. Увеличение 400.

Спустя 9-12 месяцев появляется зрелая жировая ткань, многочисленные микрососуды, малая клеточность (рисунок 4.7).

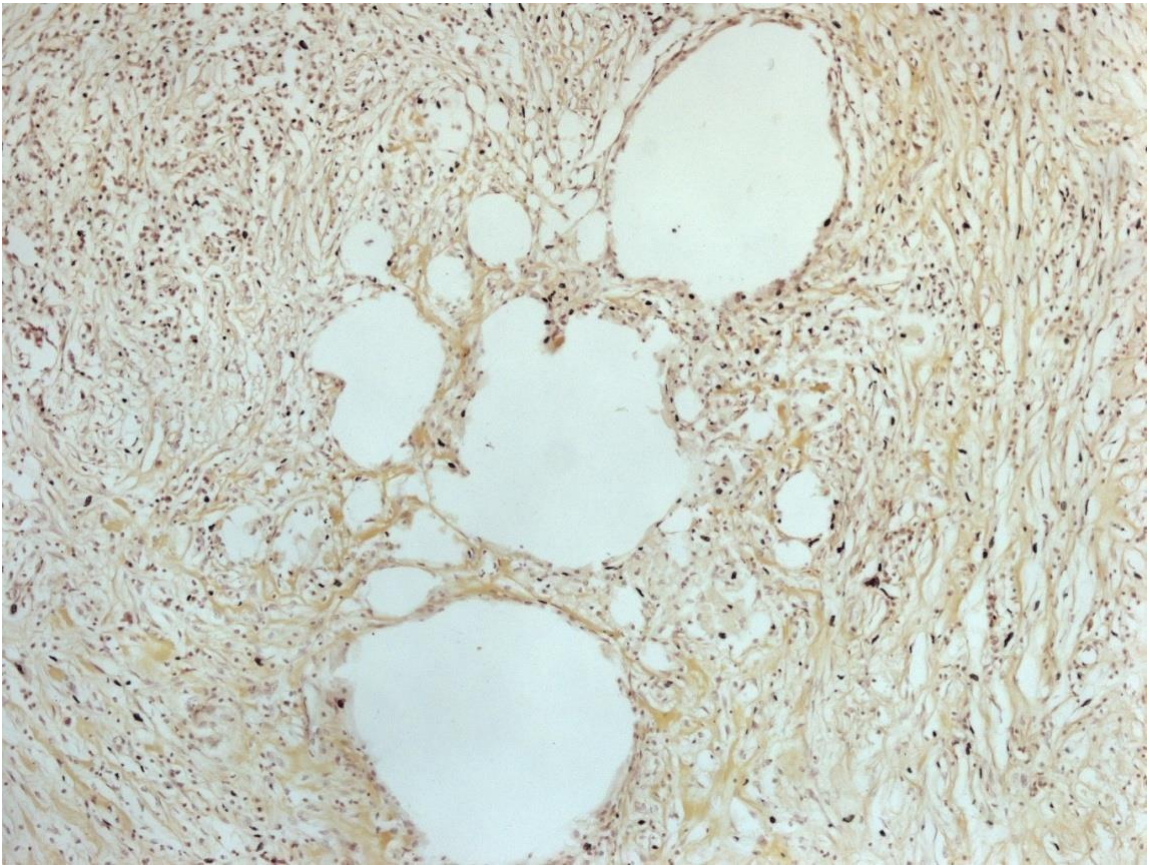


Рисунок 4.7 - Зрелая жировая ткань. Окраска: Ван-Гизон. Увеличение 400.

При исследовании коллагена 1 типа, 2 типа и 4 типа выявлено, что происходит перераспределение коллагенов различного типа в связи очищением тканей от остатков нежизнеспособных тканей и формированием грануляций (таблица № 4.1)

Через 9-12 месяцев после наблюдается полная эпителизация поверхности тканей, что подтверждает цитологическое исследование мазков-отпечатков с поверхности влагалища (рисунок 4.8)

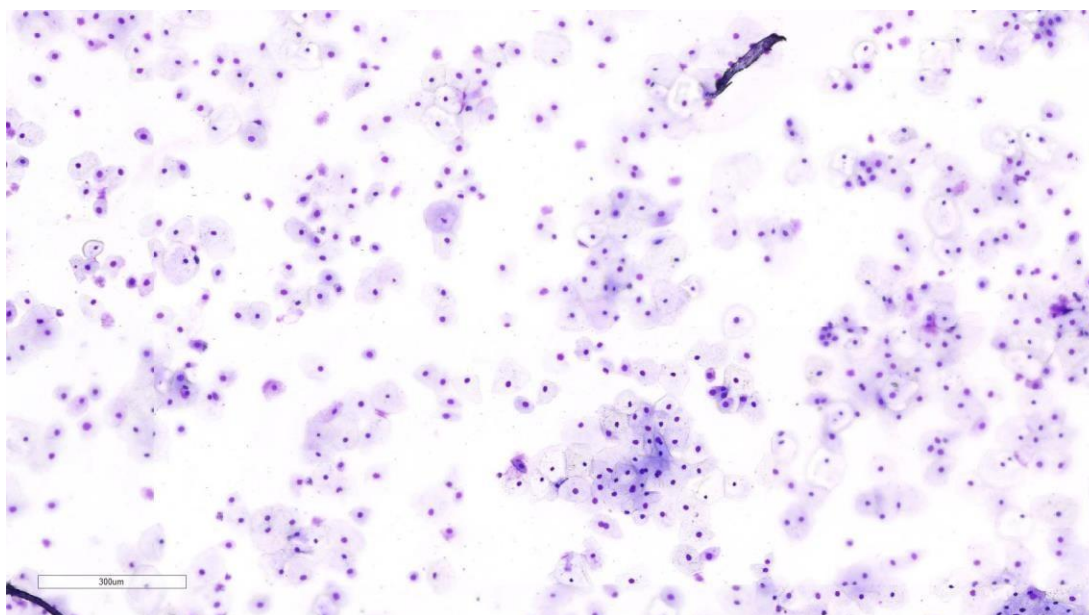


Рисунок 4.8 - Мазок отпечаток с эпителизированной поверхности влагалища (присутствуют только эпителиальные клетки). Окраска: Романовский. Увеличение 1000.

Таблица № 4.1 - Характеристика коллагенов 1,2,4 типов в исследуемых тканях (единица измерения – оптическая плотность)

№		Биопсия в 1 день	Биопсия через 3 месяца
	Коллаген 1 типа	8,24 [2,49:18,36] n=10	16,61 [10,07:26,7] n=10 p=0,0084
	Коллаген 2 типа	44,195 [15,92:76,13] n=10	21,28 [8,45:25,26] n=10 p=0,0078
	Коллаген 4 типа	23,265 [9,27:48,28] n=10	8,215 [5,16:28,64] n=10 p=0,0357

Таким образом, полученные данные позволяют сформулировать этапность и основные закономерности развития ткани. Ткань проходит ряд стадий в своем формировании от формирования грануляционной ткани до формирования зрелой жировой ткани.

Выводы по главе 4

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

В результате лечения 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.

Для сравнительной оценки эффективности применяемого нами метода инъекционной аутоотрансплантации 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 аутоотрансплантации тканей. В контрольную группу составили 33 пациентки в возрасте от 36 до 73 лет (54 ± 10) с диагнозом рецидивный постлучевой ректовагинальный свищ.

У всех пациентов экспериментальной 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.

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%). В 3 (9,9 %) из 33 случаев с целью разрешения возникших осложнений потребовались дополнительные операции (2 – обструктивная дефекация, 1 – воспалительный инфильтрат).

Была проведена оценка отдаленных результатов и обоснование эффективности метода микроинъекционной аутоотрансплантации 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании приведена оценка эффективности методики микроинъекционной аутотрансплантации тканей (липографтинг, липофилинг), основанной на введении стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ жт) с целью лечения поздних лучевых повреждений прямой кишки (проктиты, язвы, ректовагинальные свищи).

В работе рассмотрены этиологические, патогенетические механизмы развития постлучевых повреждений прямой кишки, их классификацию, стадийность, клиническую картину и симптоматику, алгоритмы диагностики и лечения.

Постлучевые повреждения прямой кишки – частое осложнение лучевой терапии, проводимой по поводу рака шейки матки. На первом этапе наблюдаются функциональные нарушения, обусловленные нарушением гемодинамики, гипоксией и интоксикацией. На втором этапе происходят изменения на морфологическом уровне, которые сопровождаются молекулярно-генетическими, биохимическими, иммунологическими нарушениями. На третьем этапе происходит развитие воспалительного процесса, наблюдаются склеротические процессы, фиброз. Это приводит к дальнейшему прогрессированию состояния, постепенному развитию ректитов, проктитов. Постепенно слизистая оболочка становится более тонкой, что сопровождается развитием эрозий, изъязвлений, язв, и свищей.

В плане патогенеза практически все местные лучевые реакции сходны между собой. Однако в клиническом проявлении все они характеризуются многочисленностью проявлений и разнообразием. В зависимости от выраженности клинических повреждений, все лучевые осложнения прямой кишки подразделяют на легкие и тяжелые. К легким повреждениям относят катаральные и эрозивные лучевые повреждения, к тяжелым относят язвенные и свищевые повреждения.

Диагностировать постлучевые повреждения на ранней стадии довольно сложно ввиду малоизученности проблемы, отсутствия единых диагностических протоколов. Лечение постлучевых повреждений прямой кишки может быть, как консервативным, так и радикальным, в зависимости от тяжести патологических явлений, прогрессирования патологического состояния.

В диссертации изучена специфика лучевых проктитов, лучевых язв и ректовагинальных свищей как основных осложнений лучевой терапии.

Наиболее характерным следствием лучевой терапии становится радиационный проктит (воспаление прямой кишки). Лечение первичного проктита обычно консервативное. Широко используются эндоскопические и медикаментозные техники лечения. Однако лучевые повреждения отличаются тенденцией к прогрессированию. Так, в 4,5-8% случаев лучевые проктиты завершаются тяжелыми лучевыми повреждениями в виде ректовагинальных язв, которые затем переходят в ректовагинальные свищи [4, 8, 25].

Отличительной чертой, которая выделяет лучевые язвы от других язв, является длительный период экссудации язвы и отсутствие заживления тканей. Также крайне медленно происходит отторжение некротизированной ткани, в связи с чем изменяется микрофлора и резко возрастает риск развития септических процессов. Заживление язвы сопровождается развитием грануляционной ткани, при этом в дальнейшем происходит эпителизация и рубцевание основной ткани. Этот процесс протекает крайне медленно, и может длиться в течение нескольких лет.

Полноценному заживлению препятствует снижение репарационных способностей тканей, иммунодефицит, каскад биохимических, иммунологических реакций. Поэтому многие язвы прогрессируют и перерастают в свищи (у женщин – ректовагинальные свищи).

Под ректовагинальным свищем (РВС), следует подразумевать тяжелое свищевое поражение ректовагинальной перегородки, при котором формируется сквозное отверстие между влагалищем и прямой кишкой [98]. Постлучевые свищи выделяют в отдельную категорию, поскольку это сложнейшая нозология,

которая требует специфического подхода и к диагностике, и к лечению. Они довольно сложно поддаются лечению, практически не заживают самопроизвольно, характеризуются склонностью к рецидивирующему течению [26,28].

Нами Проанализированы алгоритмы лечения различных видов лучевых повреждений прямой кишки, определена их эффективность.

Консервативное лечение может быть эффективно только в лечении проктитов, язв. В отношении ректовагинальных свищей консервативная терапия оказывается неэффективной, и применяются хирургические методы. Стоит отметить, что хирургические способы также несовершенны [134]: высокий риск послеоперационных осложнений, частые рецидивы, необходимость выполнения разгрузочной колостомы. В качестве альтернативы хирургическим методам рассматриваются клеточные технологии.

В работе проведен анализ основных показателей стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани и возможности ее применения при проведении микроинъекционной аутотрансплантации тканей (липографтинг, липофилинг) с целью лечения поздних лучевых повреждений прямой кишки

В основе клеточных технологий, применяемых в регенераторной медицине, лежит применение стволовых клеток. Перспективным клеточным продуктом является стромально-васкулярная фракция (СВФ), которая оказывает противовоспалительный, иммуномодулирующий, антисептический эффекты, способна к дифференцировке в другие типы клеток. Преимущество применения СВФ состоит в том, что отсутствие длительного культивирования предотвращает риск возникновения таких неблагоприятных явлений, как контаминация клеточного материала патогенной микрофлорой, генетическая трансформация, спонтанная дифференцировка клеток [85, 114, 120, 131]. СВФ может применяться для лечения постлучевых повреждений прямой кишки.

Нами были изучены такие свойства аутологичной жировой ткани, как общая клеточность, общая и клеточная жизнеспособность, устойчивость клеток. Средний возраст донора составляет 45 ± 4 года, средние показатели клеточности

составляют $3728000,00 \pm 2239982,143$, средние показатели жизнеспособности - $67,300 \pm 13,95$, средние показатели клеточной жизнеспособности составляют $2702924,00 \pm 2037498,601$.

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 ($p=0,374$).

5. Разработали и апробировали 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).

Нами был разработан метод лечения: микроинъекционная аутотрансплантация жировой ткани. При этом используются аутологичные регенеративные клетки жировой ткани (adipose-derived regenerative cells, ADRC), полученные путем ферментативной обработки жировой ткани передней брюшной стенки.

После проведенного лечения 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 $1,39 \pm 0,54$ см., 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. В среднем, для достижения полной эпителизации постлучевого повреждения прямой кишки, большинству пациенток потребовалось 3 инъекции аутологичной жировой ткани.

Было установлено, что у пациенток с лучевой язвой полной эпителизации удалось достичь уже через 6 месяцев (77,5% пациенток). Тогда как у пациенток с

ректовагинальным свищем, полная эпителизация у большинства пациенток наступала только спустя 1 год (63% пациенток).

Определенные опасения представляет линия тренда в исследовании постлучевых язв, которая показывает тенденцию 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 своевременно принять необходимые меры. Возможно, пациентками потребуются повторное контрольное введение аутологичной жировой ткани для закрепления ожидаемого результата. Это требует исследования дальнейших отсроченных результатов.

Также у всех пациенток отметили улучшение показателей эластомерии в динамике.

Кроме того, процесс заживления оценивали клиническими и гистологическими методами. Клиническая картина включала постепенное уменьшение размера свища, уменьшение воспаления и восстановление слизистой оболочки влагалища и прямой кишки.

В результате лечения наблюдается тенденция к повышению качества жизни пациенток. Сравнительный анализ показал следующее: 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.

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%).

Была проведена оценка отдаленных результатов и обоснование эффективности метода микроинъекционной аутотрансплантации тканей на основе клинических, биохимических, иммунологических показателей.

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. Соответственно, дефект имеет тенденцию к заживлению.

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 эпитезация 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 вследствие 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 липоасpirата 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.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для достижения результатов, рекомендуется 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 она должна быть отложена. Противопоказания к проведению процедуры:

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

- Объёмные 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 ПВ/ША.

- Острая сосудистая патология.

- Возрастная макулярная дегенерация (отечная или атрофическая форма).

3. Всем пациентам рекомендуется 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 потребуется 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. Важным методом контроля процесса заживления дефекта является метод эластометрии. Также при помощи эластометрии можно определить 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 СОКРАЩЕНИЙ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева, И.С. Применение комбинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с дефицитом костной ткани (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.14 / Алексеева Ирина Сергеевна. – Москва, 2013. – 39 с.
2. Анализ частоты осложнений лучевой терапии у пациентов с раком предстательной железы / И.Г. Исаев, Ф.А. Гулиев, К.С. Акперов, Н.Р. Алиева // Казанский медицинский журнал. - 2017. - Т. 98, № 5. – С. 680-686.
3. Андреас, М.К. Колоректальная хирургия: монография / М.К. Андреас. - Москва: Бином, 2011. – 387 с.
4. Астрелина, Т.А. Оценка качества и безопасности применения криоконсервированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток плаценты в клинической практике / Т.А. Астрелина, А.Е. Гомзяков, И.В. Кобзева // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 82-87.
5. Байтман, Т.П. Лечение пациенток с пузырно-влагалищными свищами / Т.П. Байтман, // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2015. – Т. 5, № 5. – С. 809.
6. Бапиев, Т.А. Клиническая оценка результатов сочетанного применения новых методов оперативных вмешательств при родовых разрывах промежности и послеродовом анальном недержании / Т.А. Бапиев // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2013. – Т. 13, № 11. – С. 44-48.
7. Бапиев, Т.А. Основные принципы медицинской реабилитации и результаты лечения больных, страдающих проктологическими заболеваниями неопухолевой этиологии / Т.А. Бапиев, Э.Ш. Султанов, Д.Б. Таждинов // Вестник хирургии Казахстана. - 2013. - №4. - С. 36-38.

8. Бапиев, Т.А. Ректовагинальные свищи - перспективы хирургического лечения / Т.А. Бапиев, Э.Ш. Султанов // Вестник хирургии Казахстана. – 2012. – №2. – С. 50-52.
9. Бапиев, Т.А. Ректовагинальные свищи: предоперационная подготовка и разработка новых методов оперативных вмешательств / Т.А. Бапиев // Хирург. – 2012. – № 9. – С. 31-37.
10. Белохвостикова, Т.С. Сравнительная эффективность использования иммунокоррекции у больных хроническим остеомиелитом / Т.С. Белохвостикова, Ю.С. Винник // Иммунологические проблемы в хирургии. – 2015. – Т.17, Спец. вып. – С.221.
11. Березняков, И.Г. Иммунологические и биохимические нарушения при остеоартрозе в сочетании с артериальной гипертензией и ожирением / И.Г. Березняков, И.В. Корж // Международный медицинский журнал. – 2013. - № 2. – С. 79-83.
12. Бурковская, В.А. Радиационные (лучевые) поражения кишечника / В.А. Бурковская // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2013. - №3-4. – С. 18-24.
13. Буяновская, О.А. Частота анеуплоидии в культурах мезенхимных стволовых клеток человека: дис. ... канд. мед. наук: 03.02.07 / Буяновская Ольга Анатольевна. – Москва, 2010. – 219 с.
14. Важенин, А.В. Морфологическая оценка эффективности рентгеноэндоваскулярных вмешательств при раке шейки матки / А.В. Важенин, Н.А. Шаназаров, Ф.Х. Налгиева // Опухоли женской репродуктивной системы. - 2012. - №1. - С. 69-74.
15. Валентов, А.Ю. Свищи / А.Ю. Валентов // Хирург. – 2016. - №5. – С. 33-58.
16. Веремеев, А.В. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины / А.В. Веремеев // Гены и клетки. – 2016. - №1. – С. 35-42.
17. Визир, В.А. Радиационные поражения. Клиническая характеристика ионизирующих излучений. Патогенез лучевой болезни. Клиническая классификация радиационных поражений, острой лучевой болезни. Понятие о

- лучевой травме, оказание медицинской помощи на этапах медицинской эвакуации: учебно-методическое пособие к практическим занятиям по внутренней медицине (военной терапии) для студентов V курса медицинского факультета / В.А. Визир, Е.И. Попленкин. – Запорожье: ЗГМУ, 2015. – 66 с.
18. Гаврилюк, В.П. Роль показателей адаптивного иммунитета в выборе хирургической тактики лечения аппендикулярного перитонита у детей / В.П. Гаврилюк, А.И. Конопля // Иммунологические проблемы в хирургии. – 2015. – Т. 17, Спец. вып. – С. 221-222.
19. Галченко, Л.И. Лучевые осложнения при лучевой терапии: учебное пособие для студентов / Л.И. Галченко, В.В. Маточкин. – Иркутск: ИГМУ, 2015. – 30 с.
20. Гильмутдинова, И.Р. Панорамный взгляд на проблемы анти-старения: от клетки до персонального продукта / И.Р. Гильмутдинова, П.С. Еремин // Международный научно-исследовательский журнал. – 2019. - № 3 (81). – С. 59-61.
21. Гистологические особенности липографта с плазмой, обогащенной тромбоцитами после подкожной трансплантации *in vivo* / И.Р. Дзампаева, И.В. Гайворонский, И.В. Крайник [и др.] // Клетки и гены. – 2016. - Т. 9, №1. – С. 70-74.
22. Гладкова, Е.В. Иммунная реактивность костной ткани у пациентов с остеоартрозом / Е.В. Гладкова, Е.В. Карякина, И.А. Мамонова // Иммунологические проблемы в хирургии. – 2015. – Т. 17, Спец. вып. – С. 222.
23. Грошилин, В.С. Значение индивидуального междисциплинарного подхода в повышении эффективности лечения больных с анальной трещиной / В.С. Грошилин, В.Г. Заика, Е.А. Рогожкина // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2015. - №1. – С. 101-108.
24. Грошилин, В.С. Значение индивидуального подхода в выборе тактики лечения ректовагинальных свищей / В.С. Грошилин, Е.В. Чернышова, Л.В. Узунян // Медицинский Вестник Юга России. – 2016. – №2. – С. 47-50.
25. Грошилин, В.С. Оптимизация выбора метода операции при ректовагинальных свищах / В.С. Грошилин, Е.В. Чернышова // Вестник ВолГМУ. – 2016. - №1(57). – С. 132-135.

26. Диагностика и лечение мочепузырно-толстокишечно-влагалищно-кожного свища (клинический случай) / Е.В. Довбета, О.В. Ооржак, Е.А. Полутарников [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2020. - №1. – С. 58-62.
27. Диагностика и лечение язвенной болезни у взрослых (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества колоректальных хирургов и Российского эндоскопического общества) / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, М.П. Королев [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2020. – Т. 30, № 1. – С. 49–70.
28. Дисаи, Дж.Ф. Клиническая онкогинекология: в 3-х т. / Дж. Ф. Дисаи, У.Т. Крисман. - Москва: Практическая медицина, 2012.
29. Довлатов, З.А. Хирургическое лечение лучевых уrogenитальных свищей у женщин / З.А. Довлатов, О.Б. Лоран, А.В. Серегин // Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению: матер. II Национального конгресса. – Москва, 2017. – С. 47.
30. Жариков, А.А. Онкологическая заболеваемость органов малого таза, лучевые повреждения и их диагностика (обзор литературы) / А.А. Жариков, О.В. Терехов // Радиация и риск. – 2013. - Т. 22, №3. – С. 57-64.
31. Зорина, А.И. Применение аутологичного жира, обогащенного стромально-васкулярной клеточной фракцией, для коррекции дефектов мягких тканей (краткий обзор исследований) / А.И. Зорина, Л.В. Зорин // Вестник эстетической медицины. – 2012. - № 4. – С. 60-68.
32. Зорина, А.И. Применение клеточных технологий в эстетической медицине: современное состояние вопроса / А.И. Зорина, В.Л. Зорин // Инъекционные методы в косметологии. – 2016. - №2. – С. 56–69.
33. Зорина, А.И. Стромально-васкулярная фракция: возможности применения в эстетической медицине / А.И. Зорина, В.Л. Зорин // Косметика и медицина. – 2018. - № 2. – С. 31-36.
34. Иволгин, Д.А. Выделение фракции ядросодержащих клеток из пуповинной крови – выбор метода / Д.А. Иволгин, А.Б. Смолянинов // Вестник Северо-Западного

- государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. – 2014. – Т. 6, № 2. – С. 13–18.
35. Измайлов, А.А. Первичные результаты применения стромально-васкулярной фракции аутологичной жировой ткани при стрессовом недержании мочи у мужчин / А.А. Измайлов // Креативная хирургия и онкология. - 2018. – Т. 8, № 3. - С. 171–175.
36. Исследование биоматериала из жировой ткани, используемого в лечении постлучевых повреждений прямой кишки / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2018. - №3(75). – С. 36-42.
37. Исследование иммуномодулирующих свойств мезенхимальных стволовых клеток человека *in vitro* / А.А. Айзенштадт, В.В. Багаева, О.В. Супильникова [и др.] // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 659–660.
38. Исследование эффективности применения аутологичных клеточных продуктов на основе жировой ткани для терапии тяжелых местных лучевых повреждений / П.С. Еремин, Н.А. Пигалева, М.Б. Мурзабеков [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2014. - № 10 (4). – С. 838–844.
39. Исследование эффективности применения аутологичных продуктов на основе жировой ткани для лечения постлучевых ректовагинальных свищей / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин [и др.] // Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. – 2018. - № 1(20). – С. 97-99.
40. Карпюк, В.Б. Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование): дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.14 / Карпюк Владимир Борисович. – Ставрополь, 2019. – 319 с.
41. Кичемасов, С.Х. Кожная пластика лоскутами с осевым кровоснабжением при ожогах и отморожениях IV степени / С.Х. Кичемасов, Ю.Р. Скворцов. – Санкт-Петербург: Гиппократ, 2012. – 287 с.

42. Клименко, К.А. Лучевые ректиты при комплексном лечении рака органов малого таза (обзор литературы) / К.А. Клименко, З.С. Цаллагова // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. – 2014. - № 14. – С. 1-12.
43. Клиническая лабораторная диагностика: учебник / В.В. Долгова, О.В. Михненко, И.З. Коготкова [и др.]. – Москва: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2016. – 668 с.
44. Князев, О.В. Клеточная терапия перианальных проявлений болезни Крона / О.В. Князев, Н.А. Фадеева // Терапевтический архив. – 2018. - № 3. – С. 60-66.
45. Лазебник, Л.Б. Иммунологическая и онкологическая безопасность аутологичных и аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга / Л.Б. Лазебник, В.Э. Сагынбаева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. - Т. 107, № 7. – С. 67-71.
46. Лечение постлучевого коловагинального свища методом микроинъекционной аутотрансплантации жировой ткани / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. - №6(72). – С. 96-100.
47. Липографтинг и стромально-васкулярная фракция жировой ткани в лечении пациенток с постлучевыми ректовагинальными свищами / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, А.В. Важенин [и др.] // Онкологическая колопроктология. – 2019. - №1. – С. 34-41.
48. Липофилинг. Обзор методики, современные возможности и перспективы коррекции кожных рубцов / Ю.А. Сергеева, А.Х. Каде, С.Б. Богданов, А.И. Трофименко // Инновационная медицина Кубани. – 2019. - №15(3). – С. 62-67.
49. Лоран, О.Б. Рецензия на статью «Современная классификация постлучевых свищей органов малого таза / О.Б. Лоран // Онкоурология. – 2019. – Т. 15, №2. – С. 124.
50. Лоран, О.Б. Современные подходы к лечению постлучевых урогенитальных свищей у женщин: обзор литературы / О.Б. Лоран, А.В. Серегин, З.А. Довлатов // Онкоурология. – 2015. - № 4. – С. 42-45.
51. Лучевые проктиты: пособие для врачей / Т.Б. Топчий, И.В. Сычева, Г.О. Рахадзе [и др.]. – Москва: Прима Принт, 2019. – 36 с.

52. Масгутов, Р.Ф. Применение клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани при лечении полнослойного дефекта гиалинового хряща медиального мыщелка бедренной кости коленного сустава: клинический случай / Р.Ф. Масгутов, Р.З. Салижов, А.А. Ризванов // Гены и клетки. – 2014. - Т. 9, № 3. – С. 303-306.
53. Медведев, В.Л. Оптимизация хирургического лечения мочепузырно-влагалищных свищей / В.Л. Медведев, А.М. Опольский // Вестник урологии. – 2017. - № 5(3). – С. 79-86.
54. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: современный взгляд, актуальность и перспективы применения в пластической хирургии / О.И. Старцева, Д.В. Мельников, А.С. Захаренко [и др.] // Исследования и практика в медицине. – 2016. - №3 (3). –С. 68-75.
55. Меркулов, В.А. Проблемы и перспективы применения клеточной терапии в клинической практике / В.А. Меркулов // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2011. - № 2. – С. 35-38.
56. Надеин, К.А. Фармакологическая коррекция диффузного воспаления соединительной ткани у крупного рогатого скота: специальность 06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией: дис. ... д-ра биол. наук / Надеин Константин Александрович. – Краснодар, 2016. – 152 с.
57. О биомедицинских клеточных продуктах [Электронный ресурс]: Федеральный закон от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ // Консультант плюс [сайт]. - URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_199967/ (дата обращения: 18.11.2020).
58. О применении препаратов на основе плазменных факторов свертывания крови / Н.Ф. Никитюк, Н.А. Гаврилова, Ю.И. Обухов, Л.В. Саяпина // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, Спец. вып. – С. 276-277.
59. Острый живот в гинекологии: учебное пособие для студентов старших курсов / А.Р. Хайбуллина, И.В. Сахаутдинова, Т.П. Кулешова [и др.]. - Уфа: Изд-во БашНИПИнефть, 2014. - 56 с.

60. Пасов, В.В. Осложнения и повреждения органов и тканей при лучевой терапии / В.В. Пасов, А.К. Курпешева // Основы лучевой диагностики и терапии: национальное руководство / под ред. С.К. Тернового. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – С. 962-990.
61. Плаксин, С.А. Сравнительные аспекты возможностей использования и побочные эффекты различных методов липоаспирации / С.А. Плаксин, Н.И. Храмцова // Новости хирургии. – 2016. – Т.24, №1. – С. 77-83.
62. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака прямой кишки. Злокачественные опухоли / М.Ю. Федянин, О.А. Гладков, С.С. Гордеев [и др.] // Практические рекомендации RUSSCO. – 2020. – Т.10, №3. – С. 391–438.
63. Применение клеток стромально-васкулярной фракции из жировой ткани для замещения сегментарного дефекта альвеолярного отростка челюсти собаки: экспериментальный случай / А.Р. Хайрутдинова, Ф.А. Хафизова, М.З. Миргазизов [и др.] // Гены и клетки. – 2015. - Т. 10, №4. – С. 110-113.
64. Применение синтетических и биологических имплантов для укрепления ректовагинальной перегородки при коррекции ректоцеле / Ю.А. Шельгин, О.М. Бирюков, А.Ю. Титов [и др.] // Вестник хирургии. – 2017. – Т. 176, №4. – С. 51-54.
65. Пролиферативный и дифференцировочный потенциал мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в условиях культивирования / В.М. Семенова, Н.И. Лисяный, Л.П. Стаино [и др.] // Украинский нейрохирургический журнал. – 2014. - №3. – С. 24-29.
66. Рачинская, О.А. Применение методов цитогенетического анализа при оценке качества клеточных линий в составе биомедицинских клеточных продуктов / О.А. Рачинская, В.А. Меркулов // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. - № 18 (1). – С. 25–32.
67. Результаты применения лапароскопической технологии при хирургическом этапе лечения злокачественных опухолей нижнеампулярного отдела прямой кишки / В.Б. Александров, Л.В. Корнев, В.Н. Разбирин [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. - № 4-2 (80). – С. 11-15.

68. Ректальная терапия воспалительных заболеваний кишечника / П. Фрай, Г. Роглер, А.О. Головенко, С.И. Ситкин. – Москва: Прима Принт, 2017. – 28 с.
69. Ройтберг, Г.Е. Внутренние болезни. Система органов пищеварения: учебное пособие / Г.Е. Ройтберг, А.В. Струтынский. – Москва: Мед-пресс-информ, 2011. – 560 с.
70. Романенков, Н.С. Возможности применения мезенхимальных стволовых клеток из аутологичной жировой ткани в пластической и реконструктивной хирургии / Н.С. Романенков, К.Н. Мовчан // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2016. – Т. 8, № 2. – С. 125-134.
71. Романенков, Н.С. Негативные эффекты трансплантации аутологичной жировой ткани, обогащенной культурой стволовых клеток (обзор литературы) / Н.С. Романенков, К.Н. Мовчан // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2017. – Т. 12, №4. – С. 326–339.
72. Романенков, Н.С. Результаты применения мезенхимальных стволовых клеток из аутологичной жировой ткани в пластической и реконструктивной хирургии (обзор литературы) / Н.С. Романенков, К.Н. Мовчан // Вестник Санкт-Петербургского государственного университета. - 2016. - №4. - С. 85–95.
73. Самойлов, А.С. Применение клеточных технологий при термических ожоговых повреждениях кожи (Опыт ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А. И. Бурназяна ФМБА России) / А.С. Самойлов // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2019. - № 15 (4). – С. 999–1004.
74. Семирджаянц, Э.Г. Хирургическое лечение больных с лучевыми свищами при раке шейки матки: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17, 14.01.12 / Семирджаянц Эдгар Гариевич. – Москва, 2015. – 135 с.
75. Смышляев, И.А. Оценка безопасности и эффективности внутрисуставного введения стромально-васкулярной фракции жировой ткани для лечения гонартроза: промежуточные результаты клинического исследования / И.А. Смышляев // Травматология и ортопедия России. – 2017. - № 23 (3). – С. 17-31.

76. Современная классификация постлучевых свищей органов малого таза / Л.А. Васильев, И.П. Костюк, С.А. Иванов, А.Д. Каприн // Онкоурология. – 2019. - №15(2). – С. 118-123.
77. Сравнение эффективности доступных источников аутогенных колониформирующих эндотелиальных клеток / В.Г. Матвеева, Л.В. Антонова, Е.А. Великанова [и др.] // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14, №4. – С. 35-45.
78. Стромальные клетки жировой ткани в регенеративной хирургии / В.Б. Карпюк, В.А. Порханов, М.Д. Перова, И.В. Гилевич // Инновационная медицина Кубани. – 2018. - № 3 (11). – С. 64-71.
79. Струкова, О.О. Хирургическая реабилитация пациентов с рубцовыми деформациями и дефектами мягких тканей челюстно-лицевой области при помощи комбинированных методов липофилинга: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14, 14.01.17 / Струкова Ольга Олеговна. – Москва, 2019. – 121 с.
80. Сычева, И.В. Консервативные методы лечения местных лучевых повреждений, формировавшихся в результате сочетанной лучевой терапии и брахитерапии рака предстательной железы / И.В. Сычева, В.В. Пасов, А.К. Курпешева // Сибирский онкологический журнал. – 2012. - №5. – С. 57-60.
81. Сычева, И.В. Лечение лучевых повреждений органов малого таза после лучевой терапии рака предстательной железы / И.В. Сычева // Сибирский онкологический журнал. – 2018. - №17 (3). – С. 64–71.
82. Сычева, И.В. Лучевые повреждения органов малого таза после лечения ранних стадий рака предстательной железы (обзор литературы) / И.В. Сычева, В.В. Пасов // Радиация и риск. – 2014. - № 23 (4). – С. 99-115.
83. Тихомирова, А.В. Доклинические и клинические аспекты разработки биомедицинских клеточных продуктов / А.В. Тихомирова, Д.В. Горячев // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. - 2018. - №8(1). – С. 23–35.
84. Устранение контурных дефектов, возникших в результате противоопухолевого лечения, методом инъекционной аутотрансплантации жировой ткани / В.С.

- Васильев, С.А. Васильев, А.В. Важенин [и др.] // Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. – 2018. - № 1(20). – С. 22-23.
85. Федонюк, Л.Я. Структурно-функциональные биохимические и иммунологические особенности тонкого кишечника под воздействием алюминия хлорида в эксперименте / Л.Я. Федонюк, Л.Т. Котляренко, О.М. Ярема // Вестник СурГУ. Медицина. – 2018. - №2(36). – С. 91-96.
86. Хирургическая реабилитация больных с постлучевыми везиковогинальными свищами при раке шейки матки / Э.Г. Семирджанянц, А.В. Истровский, И.А. Фанштейн [и др.] // Онкоурология. – 2013. - № 4. – С. 66-68.
87. Хирургическая реабилитация больных с постлучевыми ректо-вагинальными свищами при раке шейки матки / Э.Г. Семирджанянц, А.В. Петровский, И.А. Фанштейн [и др.] // Колопроктология. – 2013. - №4 (46). – С. 13–17.
88. Хирургическое лечение при осложненных местнораспространенных опухолях органов малого таза / В.В. Бойко, И.В. Криворотько, В.Н. Лыхман, Д.А. Мирошниченко // Медицинские перспективы. – 2018. – Т. 23, №4(1). – С. 23-28.
89. Хирургическое лечение ректовагинальных свищей. Опыт пластики лучевого ректовагинального свища лоскутом martius-symmonds / Д.Э. Елисеев, Э.Н. Елисеев, О.Н. Аймамедова [и др.] // Онкогинекология. – 2015. - № 2. - С. 59-69.
90. Чернышенко, Е.В. Комплексный подход к определению способа хирургического лечения ректовагинальных свищей (клинические и морфологические исследования): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Чернышенко Екатерина Владимировна. – Ростов-на-Дону. – 2017. –191 с.
91. Шевела, Е.Я. Первые клинические результаты применения клеток стромально-васкулярной фракции липоасpirата у пациентов с гонартрозом / Е.Я. Шевела, Н.А. Ницца, Н.М. Старостина // Медицинская иммунология. – 2017. - Т. 19, № 6. – С. 779-788.
92. Шельгин, Ю.А. Справочник по колопроктологии / Ю.А. Шельгин, Л.А. Благодарный. – Москва: Литера, 2012. – 608 с.

93. Эргашев, Н.Ш. Хирургическая коррекция ректовагинальных форм аноректальных мальформаций / Н.Ш. Эргашев, Ф.А. Отамурадов // *Детская хирургия*. – 2017. - № 21(1). – С. 28-31.
94. Юдин, А.А. Отдаленные результаты лечения пациентов с низколокализованным раком прямой кишки / А.А. Юдин, В.Т. Кохнк, Г.И. Колядич // *Онкологическая колопроктология*. – 2019. – Т.9, №1. – С. 26.33.
95. Aronowitz, J. Mechanical versus enzymatic isolation of stromal vascular fraction cells from adipose tissue / J. Aronowitz, R. Lockhart, C. Hakakian // *SpringerPlus*. – 2015. – Vol. 4 (713). – P. 1–9.
96. Autologous fat transplantation versus adiposederived stem cell-enriched lipograft s: a study / A. Sterodimas, J. De Faria, B. Nicaretta, F. Boriani // *Aesthet. Surgery J*. – 2011. – Vol. 31. – P. 682–693.
97. Cell-assisted lipotransfer / S. Grabin, G. Antes, G.B. Stark [et al.] // *Dtsch. Arztebl. Int*. – 2015. - Vol. 112, № 5. – P. 255–261.
98. Cell-Assisted Lipotransfer for Cosmetic Breast Augmentation: Supportive Use of Adipose-Derived Stem/ Stromal Cells / K. Yoshimura, K. Sato, N. Aoi [et al.] // *Aesthetic Plast Surg*. – 2018. – Vol. 32, № 1. – P. 48-55.
99. Clinical results and second-look arthroscopic findings after treatment with adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis / Y.G. Koh, Y.J. Choi, S.K. Kwon [et al.] // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. – 2015. – Vol. 23, № 5. – P. 1308-1316.
100. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adiposederived adult stem cells / G. Rigotti, A. Marchi, M. Galie [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg*. – 2017. - № 119. – P. 1409–1422.
101. Colostomy is a simple and effective procedure for severe chronic radiation proctitis / Y. Zi-Xu, Ma Teng-Hui, Wang Huai-Ming [et al.] // *World J Gastroenterol*. - 2016. - №22 (24). - P. 5598–5608.
102. Comparative analysis of outcome between open and robotic surgical repair of recurrent supra-trigonal vesico-vaginal fistula / N.P. Gupta, S. Mishra, A.K. Hemal [et al.] // *J. Endourol*. – 2016. – Vol. 24, № 11. – P. 1779-1782.

103. Current use of autologous adipose tissue-derived stromal vascular fraction cells for orthopedic applications / J. Pak, J.H. Lee, K.S. Park [et al.] // *J iomed Sci.* – 2017. – Vol. 24, № 1. – P. 9.
104. Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis / M. Sato, K. Uchida, H. Nakajima [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2012. – Vol. 14. – P. R31.
105. Do, N.L. Radiation Proctitis: Current Strategies in Management / N.L. Do, D. Nagle, V.Y. Poylin // *Gastroenterol. Res. Pract.* – 2011. – Vol. 2011. – P. 917-941.
106. Enrichment of autologous fat grafts with ex-vivo expanded adipose tissue-derived stem cells for graft survival: a randomised placebo-controlled trial / S.F. Kolle, A. Fischer-Nielsen, B. Mathiasena [et al.] // *Lancet.* – 2013. – Vol. 382, № 98. – P. 1113–1120.
107. Enzymatic and non-enzymatic isolation systems for adipose tissue-derived cells: current state of the art / E. Oberbauer, C. Steffenhagen, C. Wurzer [et al.] // *Cell Regeneration.* – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. 4–7.
108. Garthwaite, M. Vesicovaginal fistulae / M. Garthwaite, N. Harris // *Indian. J. Urol.* – 2019. – Vol.26, № 2. – P. 253-256.
109. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 / T. Vos, R.M. Barber, B. Bell [et al.] // *Lancet.* – 2015. – Vol. 386 (9995). – P. 743-800.
110. Hoyer, M. The evolution of radiotherapy techniques in the management of prostate cancer / M. Hoyer, L. Muren, B. Glimelius // *Acta Oncol.* – 2015. – Vol. 54, № 6. – P. 821–824.
111. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells / P. Zuk, A. Zhu, P. Ashjian [et al.] // *Mol. Biol. Cell.* – 2002. – Vol. 13. – P. 4279–4295.
112. Immunotherapy for late radiation injuries of the rectum / R.I. Ataulakhanov, A.V. Pichugin, V.V. Pasov, A.K. Kurpesheva. – Moscow: State Organization «Institute of Immunology» FMBA of Russia, 2012. – 17 p.

113. Johnson, E.K. Efficacy of anal fistula plug vs. fibrin glue in closure of anorectal fistulas / E.K. Johnson, J.U. Gaw, D.N. Armstrong // *Dis Colon Rectum*. –2016. – Vol. 49, № 3. – P. 371–376.
114. Kamakura, T. Autologous cell-enriched fat grafting for breast augmentation / T. Kamakura, K. Ito // *Aesthet. Plast. Surg.*. – 2011. - № 35. – P. 1022–1030.
115. Kumar, S. Vesicovaginal fistula: An update / S. Kumar, N.S. Kekre, G. Gopalakrishnan // *Indian J. Urol.* – 2017. – Vol. 23, № 2. – P.187-191.
116. Laparoscopic fistula excision and omentoplasty for high rectovaginal fistulas: a prospective study of 40 patients / S.J. van der Hagen, P.B. Soeters, C.G. Baeten [et al.] // *Int J Colorectal Dis.* – 2011. – Vol. 26. – P. 1463–1467.
117. Late rectal complications after prostate brachytherapy for localized prostate cancer: incidence and management / J. Phan, D.A. Swanson, L.B. Levy [et al.] // *Cancer*. – 2019. - Vol. 115, № 9. – P. 1827-1839.
118. Local adherent technique for transplanting mesenchymal stem cells as a potential treatment of cartilage defect / H. Koga, M. Shimaya, T. Muneta [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2018. – Vol. 10. – P. R84.
119. Management of radiation proctitis / W.M. Mendenhall, B.T. McKibben, B.S. Hoppe [et al.] // *Am J Clin Oncol.* – 2014. - Vol. 37, № 5. - P. 517-523.
120. Martius advancement flap for low rectovaginal fistula: short- and long-term results / S. Pitel, J.H. Lefevre, Y. Parc [et al.] // *Colorectal Dis.* – 2011. – Vol. 13. – P. 112–115.
121. McNevin, M.S. Martius flap: an adjunct for repair of complex, low rectal vaginal fistula / M.S. McNevin, P.Y. Lee, T.W. Bax // *Am. J. Surg.* – 2017. – Vol. 193. – P. 596–99.
122. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International society for cellular therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // *Cytotherapy.* – 2016. – Vol. 8, № 4. – P. 315–317.
123. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies / P.A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno [et al.] // *Tissue Eng.* – 2001. – Vol. 7. – P. 211–218.

124. Occupational and genetic risk factors for osteoarthritis: a review / B. Yucesoy, L.E. Charles, B. Baker, C.M. Burchfiel // *Work*. – 2015. – Vol. 50. – P. 261-273.
125. Optimal planning strategy among various arc arrangements for prostate stereotactic body radiotherapy with volumetric modulated arc therapy technique / S.W. Kang, J.B. Chung, J.S. Kim [et al.] // *Radiol. Oncol.* – 2017. – Vol. 51, № 1. – P. 112–120.
126. Optimization of parameters for a more efficient use of adipose-derived stem cells in regenerative medicine therapies / M. Aguená, R. Fanganiello, L. Tissiani [et al.] // *Stem cells international*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 3036.
127. Paik, A.M. An analysis of leading, lagging, and coincident economic indicators in the United States and its relationship to the volume of plastic surgery procedures performed: an update for 2012 / A.M. Paik, I.C. Hoppe, C.J. Pastor // *Ann. Plast. Surg.* – 2013. – Vol. 71, № 3. – P. 316–319.
128. Radiotherapy for prostate cancer: is it «what you do» or «the way that you do it»? A UK perspective on technique and quality assurance / M. Mason, R. Moore, G. Jones [et al.] // *Clin. Oncol.* – 2016. – Vol. 28, № 9. – P. 92–100.
129. Rectovaginal fistula of different etiologies: clinical case reports / P. Mitra, S. Mukherjee, H. Hassan [et al.] // *NJOG*. – 2012. – Vol. 7, № 2. – P. 43–46. 128
130. Rectovaginal fistula: a common diagnostic error with significant consequences in girls with anorectal malformations / G.R. Nelson, A.R. Hong, S.Z. Soffer [et al.] // *J. Pediatr. Surg.* – 2012. – Vol. 37, № 7. – P. 961–965.
131. Safety concern between autologous fat graft, mesenchymal stem cell and osteosarcoma recurrence / P. Perrot, J. Rousseau, A.L. Bouffaut [et al.] // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5, № 6. – P. e10999.
132. Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells / M. Strioga, S. Viswanathan, A. Darinkas [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2012. – Vol. 21. – P. 2724-2752.
133. Tiryaki, T. Staged stem cell-enriched tissue (SET) injections for soft tissue augmentation in hostile recipient areas: A preliminary report / T. Tiryaki, N. Findikli, D. Tiryaki // *Aesthet. Plast. Surg.* – 2011. – Vol. 35. – P. 965–971.

134. Treatment of lateral epicondylitis by using allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a pilot study / S.Y. Lee, W. Kim, C. Lim, S.G. Chung // *Stem Cells*. – 2015. – Vol. 33, № 10. – P. 2995-3005.
135. Treatment of Transsphincteric Anal fistulas by Endorectal Advanceent Flap or Collagen Fistula Plug: A comparative study / D. Christoforidis, M.C. Pien, R.D. Madoff, A.F. Mellgren // *Dis Colon Rectum*. – 2019. – Vol. 52, № 1. – P. 18–22.
136. Weaver, L.K. Hyperbaric oxygen therapy for carbon monoxide poisoning / L.K. Weaver // *Undersea Hyperb Med*. – 2014. - Vol. 41, № 4. - P. 339-354.

Приложение 1. Вопросник EORTC QLQ - PRT23

Ваше заболевание иногда проявляет себя специфическими симптомами и может вызывать определенные проблемы. Отмечали ли Вы в течение последнего месяца наличие у себя подобных проблем или симптомов? Для ответа обведите в анкете ту цифру, которая лучше всего описывает Ваше состояние:

- 1 – Совсем нет
- 2 – Слегка
- 3 – Существенно
- 4 – Очень сильно

Вопрос	Совсем нет	Слегка	Существенно	Очень сильно
Ощущали ли Вы дискомфорт (неприятные ощущения) в животе?	1	2	3	4
Ощущали ли Вы дискомфорт (неприятные ощущения) в области влагалища?	1	2	3	4
Ощущали ли Вы дискомфорт (неприятные ощущения) в области прямой кишки?	1	2	3	4
Беспокоили ли Вас метеоризм, раздутый кишечник или вздутие желудка, неконтролируемое отхождение газов?	1	2	3	4
Замечали ли вы отхождение газов через влагалище?	1	2	3	4

Замечали ли вы усиление влагалищных выделений?	1	2	3	4
Отмечали ли вы наличие примесей кала, кишечного содержимого во влагалищных выделениях?	1	2	3	4
Беспокоили ли Вас метеоризм, раздутый кишечник?	1	2	3	4
Ощущаете ли боль во время полового контакта?	1	2	3	4
Ощущаете ли вы дискомфорт, зуд, жжение во влагалище?	1	2	3	4
Отмечали ли вы наличие гнойных скудных выделений из влагалища наряду с обычными слизистыми?	1	2	3	4
Отмечали ли вы дизурические расстройства (боль при мочеиспускании, жжение, частые/ложные позывы к мочеиспусканию)?	1	2	3	4
Отмечается ли у вас повышение температуры тела?	1	2	3	4
Приходилось ли Вам подниматься ночью для дефекации?	1	2	3	4
Были ли у Вас боли или спазмы в животе не связанные с актом дефекации?	1	2	3	4
Испытывали ли Вы боль или спазмы в области прямой кишки (глубоко внутри заднего прохода)?	1	2	3	4

Испытывали ли Вы боль или дискомфорт в перианальной области (вокруг ануса)?	1	2	3	4
Была ли у Вас алая «свежая» кровь в стуле?	1	2	3	4
Были ли у Вас темные сгустки крови в стуле?	1	2	3	4
Способны ли Вы сдерживать дефекацию 15 минут от момента появления позыва?	1	2	3	4
Испытывали ли Вы чувство незавершенной дефекации / неполного опорожнения кишечника?	1	2	3	4
Вызывает ли мочеиспускание немедленную дефекацию?	1	2	3	4
Приходилось ли Вам пользоваться гигиеническими прокладками из-за проблем со стулом?	1	2	3	4
Приходилось ли Вам отказаться от прогулки из-за необходимости находиться рядом с туалетом (из-за проблем со стулом)?	1	2	3	4
Была ли обычная для Вас повседневная деятельность ограничена проблемами пищеварения? Приходится ли Вам ограничивать / тщательно подбирать пищу для контроля проблем с пищеварением?	1	2	3	4
Вызывает ли у Вас чувство тревоги	1	2	3	4

проблемы с пищеварением?				
Испытывали ли Вы ощущение смущения / неловкости из-за Ваших проблем с пищеварением / дефекацией?	1	2	3	4
Насколько Вы будете не удовлетворены, если состояние Вашего пищеварения останется неизменным, соответствующим настоящему уровню?	1	2	3	4
Приходилось ли Вам принимать лекарства для контроля диареи?	1	2	3	4
Хотели бы Вы получить большую помощь в решении проблем с пищеварением / дефекацией? (ответ необязателен)	1	2	3	4

БЛАГОДАРИМ ЗА ЗАПОЛНЕНИЕ АНКЕТЫ!