

Резюме диссертаций: информация из ВАК России

И.В. Александрова — **Экстракорпоральная гемокоррекция в комплексном лечении печеночной недостаточности.**

I.V. Aleksandrova — **Extracorporeal hemocorrection in the complex treatment of liver failure**

(The theses for PhD degree)

Цель исследования — улучшение результатов лечения *печеночной недостаточности* (ПН) путем включения в комплексную терапию экстракорпоральных методов гемокоррекции.

Проведен анализ комплексного клиничко-лабораторного обследования и лечения 180 мужчин (54%) и 156 женщин (46%) с острой и хронической ПН.

Все обследованные как с острой, так и с декомпенсированной хронической ПН относились к трудоспособному возрасту и являлись потенциальными кандидатами для постановки в Лист ожидания трансплантации печени. Группу декомпенсированной хронической ПН составили 276 пациентов с *циррозом печени* (ЦП) различной этиологии. Наиболее частой причиной развития цирроза явилось вирусное поражение: вирусом гепатита С было инфицировано 54 пациента, вирусом гепатита В — 22 и комбинация HBV + HDV выявлена у 18.

У 93 человек старшей возрастной группы имелся алкогольный ЦП. Аутоиммунный ЦП обнаружен у 2 мужчин и 16 женщин, преимущественно молодого возраста. Первичный *билиарный цирроз печени* (ПБЦ) и *первичный склерозирующий холангит* (ПСХ) диагностированы у 23 и 16 пациентов соответственно. Группу ПБЦ составили женщины среднего возраста ($47,5 \pm 6,7$ года), из 16 пациентов с ПСХ было 10 мужчин (62,5%) и 6 женщин (37,5%) среднего возраста ($35,45 \pm 10,76$ года). Трое мужчин и 14 женщин составили группу пациентов с криптогенным ЦП. Самый молодой возраст ($27,42 \pm 6,54$ года) был у 5 мужчин и 10 женщин с болезнью Вильсона—Коновалова.

Определение степени тяжести ЦП проводилось в соответствии с классификацией Child—Pugh и по шкале MELD — математической модели конечной

стадии заболеваний печени, включающей оценку билиарной системы, функции почек и свертывающей системы крови. Степень тяжести органной дисфункции оценивали по шкале SOFA, степень энцефалопатии — по критериям West Haven. У 38 пациентов зарегистрирована степень тяжести, соответствующая классу А, у 110 — классу В и у 128 — классу С.

Таким образом, 86% обследованных пациентов имели длительно протекающее субкомпенсированное или декомпенсированное диффузное заболевание печени (первая группа) и рассматривались как потенциальные реципиенты на пересадку печени. Степень тяжести по шкале MELD составляла в среднем $21,4 \pm 6,1$ балла, органная недостаточность по шкале SOFA — $7,58 \pm 2,79$ балла. Вторую группу составили 60 пациентов с *острой печеночной недостаточностью* (ОПН) и дисфункцией печеночного трансплантата. ОПН различной этиологии, в том числе с фульминантным течением, отмечалась у 24 мужчин и 22 женщин.

Наиболее частой причиной развития ОПН явился острый алкогольный гепатит — 37% случаев ($n=17$). На втором месте по частоте встречаемости было острое лекарственное поражение печени — 24% ($n=11$). Из 11 больных с острыми отравлениями у 8 отмечалось отравление грибами и у 3 — хлорированными углеводами. Дебют болезни Вильсона—Коновалова в виде развития фульминантной ПН выявлен у 2 пациенток, им была выполнена *ортотопическая трансплантация печени* (ОТП) по экстренным показаниям. Наблюдались одна пациентка с фульминантным течением острого вирусного гепатита В, один пациент — после массивной резекции печени, у одного ОПН возникла вследствие сепсиса, у

одного — после массивного гемолиза эритроцитов и у одного этиология осталась неизвестной.

Степень органной дисфункции по шкале SOFA составляла в среднем $8,5 \pm 3,6$ балла.

ОПН в результате дисфункции трансплантата после перенесенной ОТП возникла у 8 мужчин и 6 женщин. Первичная дисфункция трансплантата имела место у 6 пациентов, хроническая — у 8. Степень тяжести по шкале MELD составила $18,2 \pm 2,6$ балла, по шкале SOFA — $7,6 \pm 5,3$ балла.

На момент завершения работы в Центре трансплантации печени НИИ СП им. Н.В. Склифосовского было выполнено 78 операций пересадки печени; 59 реципиентов из 78 проходили обследование перед постановкой в Лист ожидания ОТП и получали поддерживающую терапию в отделении лечения острых эндотоксикозов. Из 78 выполненных трансплантаций через 4, 6, 10 и 12 мес после первой операции осуществлены 4 ретрансплантации в связи с развитием тяжелой ПН вследствие дисфункции трансплантата.

Диагноз острой или хронической ПН и оценка тяжести состояния и эффективности проводимой терапии в динамике основывались на результатах комплексного клинического, лабораторного и инструментального обследования, выполнявшегося по единому плану при поступлении в стационар, до и после экстракорпоральной гемокоррекции. Осуществлялись исследование свертывающей системы крови, оценка иммунной системы, включавшая определение количественного и функционального состояния клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев.

Основным инструментальным методом верификации диагноза, динамического контроля течения заболевания и эффективности проводимой терапии являлась лучевая диагностика, предусматривавшая рентгенографическое, ультразвуковое и радионуклидное исследования. У 16 пациентов выполнено склерозирование и у 5 — лигирование варикозно-расширенных вен пищевода.

Лечение печеночной недостаточности определялось этиологией, активностью воспалительного или некротического процесса, осложнениями и сопутствующими заболеваниями. Печеночно-клеточная недостаточность, угроза кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода и желудка, а также отечно-асцитический синдром служили показаниями к проведению комплексной терапии, включавшей методы экстракорпоральной гемокоррекции.

Консервативная терапия проводилась с момента поступления пациента в стационар и продолжалась на фоне применения экстракорпоральной гемокоррекции.

При сохраненной мочевыделительной функции почек с целью выведения из организма низкомолекулярных и водорастворимых токсических мета-

болитов и для коррекции водно-электролитных нарушений, гипопротеемии, факторов плазменного гемостаза проводили инфузионно-трансфузионную терапию и форсированный диурез по общепринятой методике.

При установке катетера в центральную вену для проведения инфузионно-трансфузионной терапии и обеспечения сосудистого доступа при экстракорпоральной гемокоррекции, а также для уменьшения образования токсинов и аммиака в толстой кишке назначались антибиотики. Препаратами выбора являлись цефалоспорины III поколения, ципрофлоксацин, ванкомицин. Антибиотикотерапия всегда проводилась при потенциальном риске развития у пациента гнойно-септических осложнений (резистентный асцит, гидроторакс, состоявшееся кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода).

Для снижения содержания в кишечнике аммиака и других токсических веществ белкового происхождения, с целью усиления перистальтики и ускоренного выведения из организма токсических веществ назначали раствор лактулозы (дюфалак, нормазе) внутрь по 30–50 мл ежедневно.

При выраженных клинических проявлениях печеночной энцефалопатии наряду с препаратами лактулозы, вводимыми *per rectum* (300 мл на 700 мл воды), внутривенно вводили препарат «Гепамерц» с последующим переходом на пероральный прием.

Для связывания в желудочно-кишечном тракте эндотоксинов и коррекции явлений дисбиоза кишечника при повышении титров антител к условно-патогенной флоре проводилось лечение энтеросорбентами с последующим назначением эубиотиков. Для восстановления и сохранения структуры гепатоцитов и клеточных мембран, нормализации внутриклеточного метаболизма применяли антиоксидантную и мембраностабилизирующую терапию с использованием α -токоферола, витаминов группы В, С, гентраля, эссенциальных фосфолипидов.

С целью профилактики развития эрозивного поражения слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта назначались блокаторы протонной помпы, антацидные препараты.

Лечение отечно-асцитического синдрома включало ограничение потребления натрия и жидкости, диуретическую терапию, сочетающую спиронолактон и салуретики, при неэффективности которых требовалось проведение абдоминального парацентеза с одновременной инфузией 10% раствора альбумина.

В случае кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода предусматривалось медикаментозное снижение давления в портальной системе (β -блокаторы, нитраты, вазопрессин, соматостатин или его аналог октреатид) и проведение облитерации варикозных узлов. При остром кровотечении

использовали прямую тампонаду кровоточащих сосудов путем постановки зонда Блекмора.

Коррекция гемостаза осуществлялась введением свежемороженой плазмы, трансфузией отмытых эритроцитов, криопреципитата, раствором аминокислотной кислоты.

У всех пациентов проводилась коррекция нарушений белкового обмена, гипопротеемии и аминокислотного дисбаланса. Использовали сбалансированные аминокислотные растворы с преобладанием аминокислот с разветвленной цепью (аминоплазмаль-гепа, гепасол А, аминокислот-гепа).

Пациентам с выраженным холестатическим синдромом в комплексную терапию включали холеретические препараты (урсофальк, урсосан).

Для коррекции анемии применялся препарат железа венофер в комплексе с эритропоэтином и витамином В₁₂. При неэффективности стандартной медикаментозной терапии в комплексное лечение включали методы экстракорпоральной гемокоррекции: *плазмаферез (ПА), продленную вено-венозную гемофильтрацию (ПВВГФ) и альбуминовый диализ (АлД) с использованием молекулярной адсорбирующей рециркулирующей системы (МАРС)*. Для осуществления адекватного кровотока во время проведения экстракорпоральной гемокоррекции использовался двухпросветный рентгеноконтрастный катетер 11 Fg, устанавливаемый по методу Сельдингера в центральной вене (внутренней яремной, подключичной или бедренной).

Ультразвуковая доплерография при ОПН уже на 1-й неделе заболевания выявляет признаки портальной гипертензии: снижение объемного кровотока по воротной вене, увеличение размеров селезенки с дилатацией внутриселезеночного венозного рисунка. По данным радионуклидных методов, ранним признаком портальной гипертензии являются преобладание радиоколлоида в селезенке (12–30% захвата) и визуализация костного мозга (3–7% захвата).

У пациентов с ЦП класса А по Child–Pugh состояние клеточного звена иммунитета соответствует значениям физиологической нормы, изменения гуморального звена обусловлены нарушением метаболической функции печени. По мере прогрессирования заболевания и перехода пациентов из класса В в класс С к нарушениям гуморальной составляющей присоединяется недостаточность клеточного звена иммунной системы.

Дезинтоксикационный эффект ПА при печеночной недостаточности сопровождается нормализацией пигментного обмена печени, уменьшением проявлений синдромов цитолиза гепатоцитов и внутрипеченочного холестаза, выраженным

иммунокорригирующим действием на параметры гуморального звена иммунитета за счет элиминации из плазмы циркулирующих иммунных комплексов и избытка функционально неполноценных иммуноглобулинов. Плазмаферез позволяет быстро и эффективно осуществлять коррекцию нарушений свертывающей и противосвертывающей систем крови, уменьшая риск геморрагических осложнений.

ПВВГФ у пациентов с ПН и гепаторенальным синдромом улучшает центральную и внутрипочечную гемодинамику, нормализует водно-электролитный баланс, снижает уровень азотистых шлаков, увеличивает скорость клубочковой фильтрации, что способствует коррекции гепаторенального синдрома.

АлД с использованием МАРС является патогенетически обоснованной системой поддержки печени, способной высокоэффективно удалять из плазмы водорастворимые и альбуминсвязанные токсины, способствуя уменьшению выраженности синдромов цитолиза и воспаления, улучшению синтетической функции печени, что приводит к регрессу энцефалопатии и купированию органной дисфункции.

Использование АлД в комплексной терапии первичной дисфункции трансплантата с 1–2-х суток послеоперационного периода способствует восстановлению его функции и препятствует развитию полиорганной недостаточности. При хронической дисфункции трансплантата позволяет стабилизировать функцию либо подготовить пациента к ретрансплантации печени.

Предложенный алгоритм комплексного применения методов экстракорпоральной гемокоррекции у пациентов с ПН способствует восстановлению или временной стабилизации основных функций печени, коррекции органных нарушений, увеличивая время выживания пациентов в период ожидания донорского органа для трансплантации, что в конечном итоге приводит к снижению летальности.

Диссертация *на соискание ученой степени доктора медицинских наук* выполнена в Научно-исследовательском институте скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы.

Научные консультанты: доктор медицинских наук, профессор **Е.А. Евдокимов**; член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор **А.С. Ермолов**.

Дата защиты: 10.09.2009 на заседании диссертационного совета Д 850.010.01 при Научно-исследовательском институте скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

О.В. Добровольский — Фармакокинетика и возможности эндоскопической оценки фармакодинамики эзомепразола.**O.V.Dobrovolsky — Pharmacokinetics and potentials of endoscopic evaluation of esomeprazole pharmacodynamics***(The theses for MD degree)*

Цель исследования — изучить фармакокинетику эзомепразола при язвенной болезни (ЯБ) двенадцатиперстной кишки (ДПК) и выделить оптимальные эндоскопические критерии для объективной сравнительной топографической оценки основного фармакодинамического эффекта этого препарата.

Обследовано 512 пациентов. Фармакокинетику эзомепразола (Нексиум, «ASTRAZENECA», Великобритания) изучали у здоровых добровольцев (8 мужчин, 2 женщины в возрасте $32,9 \pm 6,9$ года) и 10 пациентов (8 мужчин и 2 женщины в возрасте $30,7 \pm 6,9$ года) с неполной ремиссией ЯБ (стадия «красного рубца», сроки с момента обнаружения язв до включения больных в исследование ≤ 2 мес, противоязвенная терапия прекращена ≥ 2 нед до исследования). Концентрации эзомепразола в плазме измерялись методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-спектрофотометрическим детектированием. Образцы крови отбирали до и через 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6 и 8 ч после однократного приема 20 мг препарата. Данные анализировали с помощью программы M-IND, рассчитывались модельно-независимые параметры: максимальная концентрация C_{max} , время достижения максимальной концентрации T_{max} , площадь под фармакокинетической кривой AUC, общий клиренс Cl_t , среднее время удержания препарата в организме MRT, период полуэлиминации $T_{1/2}$, объем распределения V_d . Рассчитывались $C_{max}/AUC_{0-\infty}$, относительная биодоступность (f , f^I), относительная степень всасывания (f^II) препарата у больных ЯБ по сравнению со здоровыми лицами (по средним значениям $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} , C_{max} соответственно). Одновременно измерялись значения pH в желудке с помощью телерадио-pH-метра («Телефункен», Германия) и радиокапсул «Heidelberg».

Изучалась возможность применения эндоскопической pH-метрии в сравнительной топографической оценке основного фармакодинамического эффекта эзомепразола. Микропроцессорным ацидогастрометром АГМ-03 (НПП «Исток-Система», Россия) измерялся pH в контрольных точках по В.И. Садовникову и В.Н. Сотникову у 38 больных эрозивным эзофагитом (12 женщин и 26 мужчин в возрасте $34,2 \pm 8,6$ года), не принимавших блокаторы кислотопродукции. При выполнении измерений по рекомендованной методике (<http://www.i-s.ru/>) накладывали накожный электрод и вводили pH-зонд в инструментальный канал до

эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС), измеряли pH в пищеводе до осмотра желудка, что сокращало время исследования, устраняло необходимость промывания конца зонда в «озерце», повышало достоверность измеряемых значений pH в пищеводе (снижение рефлекторного заброса и переноса содержимого желудка при возвратных движениях эндоскопа). pH измеряли в точках, предложенных обоими исследователями (+ в теле желудка по большой кривизне); отмечались участки с минимальным значением pH (pH_{min}), а также с $pH_{min} \leq pH \leq pH_{min+0,2}$. Таким образом, были получены сведения об индивидуальной локализации максимально закисленных участков слизистой оболочки желудка. Активность образования HCl оценивали по pH в теле и своде желудка: $pH > 5,0$ — анацидность; $pH = 5,0 - 2,1$ — гипоацидность; $pH = 1,2 - 2,0$ — нормаацидность; $pH < 1,2$ — гиперацидность. Ощелачивающая функция антрума сохранена при $pH > 4$. Закисление ДПК — $pH < 5,0$, пищевода — $pH < 5,0$.

Влияние эзомепразола (20 мг/сут) на динамику желудочного pH при гиперацидности в желудке изучено у больных с морфологически подтвержденным гастритом (12 мужчин и 18 женщин в возрасте $34,1 \pm 9,3$ года с жалобами на боли, диспептические расстройства), обострением ЯБ ДПК (17 мужчин и 13 женщин; возраст $38,9 \pm 7,7$ года) и эрозивным эзофагитом (20 мужчин и 10 женщин; возраст $33,7 \pm 9,4$ года). Исходные значения pH в средней и нижней $1/3$ пищевода, в теле и антруме желудка, в ДПК сравнивали с данными 30 пациентов при наличии у них высокой интенсивности желудочной кислотопродукции, не имевших признаков воспаления и дефектов слизистых оболочек (условно здоровые: 8 мужчин и 22 женщины; возраст $35,1 \pm 7,9$ года). Больные принимали эзомепразол (20 мг/сут) 2 нед, затем проводилась контрольная ЭГДС с pH-метрией. Пациенты до и после лечения заполняли опросники Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) — версия Межнародного Центра исследования качества жизни (Санкт-Петербург).

Методом хромоэндоскопии с конго красным сравнивали эффективность эзомепразола и фамотидина у 42 пациентов с обострением ЯБ ДПК (28 мужчин и 14 женщин; возраст $34,5 \pm 7,0$ года), принимавших эзомепразол (20 мг/сут), и 50 пациентов (35 мужчин и 15 женщин; возраст $36,6 \pm 6,8$

года) с таким же диагнозом, принимавших фамотидин (40 мг/сут) До и через 2 нед лечения при ЭГДС на слизистую оболочку через катетер нанесли 0,3% раствор конго красного; изменения/отсутствие изменений этого витального красителя говорили об отсутствии/наличии эффекта блокаторов кислотопродукции.

Проводилась сравнительная экспресс-оценка влияния на желудочный pH курсового применения фамотицина и эзомепразола у больных ЯБ, перенесших дистальную резекцию желудка (26 мужчин; возраст $56,6 \pm 6,9$ года), и курсового применения пирензепина и эзомепразола у больных, перенесших ваготомию (11 мужчин и 6 женщин; возраст $54,2 \pm 4,5$ года). У всех пациентов имелся гиперацидный гастрит желудка или культы желудка, подтвержденный морфологическим исследованием и результатами эндоскопической pH-метрии. Больные, перенесшие резекцию, по 4 недели принимали фамотидин (40 мг/сут), затем эзомепразол (20 мг/сут), перенесшие ваготомию получали по 4 недели пирензепин (50 мг 2 раза в сутки), затем эзомепразол (20 мг/сут). ЭГДС выполнялась в конце курсового лечения каждым из препаратов.

Рассмотрены современные классификации рефлюкс-эзофагита (Савари-Миллера, Лос-Анджелесская и Лос-Анджелесская в модификации Kiesslich и Nakamura, G. Tutgat) с целью выявления оптимальной для сравнительной оценки эффективности различных блокаторов желудочной кислотопродукции (на примере эзомепразола и омепразола) при эндоскопически позитивной *гастроэзофагеальной рефлюксной болезни* (ГЭРБ). По мнению автора, использование классификаций, основанных на количестве и распространенности эрозий и/или язв, удобно для стандартизации заключений ЭГДС, но их применение для оценки эффективности антисекреторных препаратов затруднено: широко распространена «неэрозивная» форма ГЭРБ; не все классификации характеризуют осложнения ГЭРБ; клинико-эндоскопические классификации недостоверно отражают зависимость интенсивности симптомов от степени повреждения пищевода.

В исследовании участвовали больные рефлюкс-эзофагитом, степень которого классифицировалась до и после лечения у всех больных по всем четырем классификациям. После рандомизации пациенты включались в группы А и В.

Сравнивалось влияние на скорость заживления дуоденальных язв монотерапии фамотицином (40 мг/сут; группа А — 24 мужчины и 12 женщин в возрасте $34,2 \pm 8,1$ года), омепразолом (20 мг/сут; группа В — 21 мужчина и 13 женщин в возрасте $34,6 \pm 7,4$ года), эзомепразолом (20 мг/сут; группа С — 23 мужчины и 12 женщин в возрасте $32,7 \pm 9,0$ года) и стандартной эрадикационной схемы, включающей эзомепразол 40 мг/сут + кларитромицин 500 мг + амоксициллин 1000 мг 2 раза в сутки

— группа D (19 мужчин и 15 женщин в возрасте $35,1 \pm 8,9$ года). В группу D больных включали при наличии инфекции *H. pylori* — положительные результаты быстрого уреазного теста: ХЕЛПИЛ® тест (ООО «АМА», Санкт-Петербург). После рубцевания язв всем больным из групп А, В и С с инфекцией *H. pylori* также назначалась 7-дневная эрадикационная терапия, включавшая удвоенную дозу того же антисекреторного препарата, амоксициллин и кларитромицин. Контрольное эндоскопическое исследование проводилось через 2 нед (14 ± 2 сут) и при необходимости через 4 нед (28 ± 2 дня) после начала лечения. Скорость рубцевания язв оценивали по изменению их площади за единицу времени.

По результатам исследования у больных с неполной ремиссией ЯБ ДПК по сравнению со здоровыми добровольцами наблюдаются тенденции к снижению биодоступности эзомепразола и незначительное, но достоверное уменьшение продолжительности его антисекреторного эффекта.

Топографическая эндоскопическая pH-метрия слизистых оболочек пищевода, желудка и луковицы ДПК с измерением pH в 9 из 11 стандартных контрольных точках по В.И. Садовникову с соавт. (1998) и в точке в теле желудка по большой кривизне, с учетом pH средней и нижней трети пищевода, расчетом среднеарифметических значений pH в области дна и в теле желудка по большой и малой кривизне, в антральном отделе желудка, в луковице ДПК является оптимальным методом топографической оценки основного фармакодинамического эффекта препаратов — блокаторов кислотопродукции при ГЭРБ, гиперацидном гастрите и ЯБ ДПК.

Хромоэндоскопия желудка с раствором конго красного — эффективный метод экспресс-анализа особенностей кислотопродуцирующей функции желудка как в исходном состоянии, так и под влиянием фармакотерапии.

Эффективность эзомепразола, по данным динамики клинических симптомов (диспепсия, абдоминальная боль, изжога), скорости репарации (по динамике площади язвенных дефектов в стандартные контрольные сроки курсовой терапии), хромоэндоскопии с раствором конго красного отчетливо превышает таковую при использовании фамотицина, пирензепина и омепразола.

На основании комплексного клинико-инструментального и специального статистического сравнительного анализа современных классификаций эзофагита обнаружено преимущество классификации G. Tutgat для объективного контроля курсовой терапии рефлюкс-эзофагита и выбора оптимальной фармакотерапии — как индивидуальной, так и для различных групп больных.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук выполнена в Институте клинической фармакологии ФГУ «Научный центр

экспертизы средств медицинского применения Росздравнадзора» и в ФГУ «Центральная клиническая больница гражданской авиации».

Научные руководители: доктор медицинских наук **Г.К. Наседкин**, кандидат медицинских наук **С.Ю. Сереброва**.

Дата защиты: 15.09. 2009 на заседании диссертационного совета Д 208.040.13 при ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова Росздрава».

О.В. Паклина — Морфогенез хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

O.V. Paklina — Morphogenesis of chronic pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma

(The theses for PhD degree)

Цель исследования — изучить морфогенез хронического панкреатита (ХП) и его влияние на развитие протоковой аденокарциномы (ПАК) поджелудочной железы (ПЖ) для обоснования выбора тактики лечения.

Проведены клиничко-морфологические сопоставления и изучен операционный материал от 178 больных ХП и 122 пациентов с ПАК ПЖ.

Верификация новообразований проводилась на основании данных гистологического и иммуногистохимического исследования в соответствии с классификациями экзокринных и нейроэндокринных опухолей ПЖ (ВОЗ, 1998, 2000). Для исследования были отобраны наиболее репрезентативные образцы из архивного и текущего операционного материала, полученного от 100 больных, перенесших различные резекции ПЖ по поводу ХП (50 случаев) и ПАК (50 случаев). Для контроля и сравнительного анализа было исследовано 7 образцов ткани неизменной ПЖ (аутопсийный материал лиц в возрасте от 50 до 60 лет с сердечно-сосудистой патологией, не страдавших заболеваниями ПЖ).

В 36 случаях ХП был алкогольной этиологии, в 14 — вторичным обструктивным вследствие опухолевой обтурации проксимальных панкреатических протоков.

При исследовании протоковых аденокарцином опухоли различали по степени дифференцировки: высоко- (19), умеренно- (25), низкодифференцированные (4). Выделены также 2 случая недифференцированного рака ПЖ: один с наличием анапластического компонента, другой — остеокластоподобных гигантских клеток. В 19 случаях (38%) наблюдали лимфогенные и гематогенные метастазы ПАК ПЖ.

Сравнивали уровень СА19-9 и *раковоэмбрионального антигена* (РЭА) в сыворотке крови и выраженность экспрессии данных маркеров в

опухолевых клетках, анализируя материал от 139 больных. Из них диагноз ХП установлен у 44 (31,7%) пациентов, протоковая аденокарцинома — у 52 (37,4%), муцинозная цистаденома — у 5 (3,6%), муцинозная цистаденокарцинома — у 8 (5,8%), серозная цистаденома — у 12 (8,6%), недифференцированный рак — у 6 (4,3%), железисто-плоскоклеточный рак — у 1 (0,7%), эндокринный рак — у 11 (7,9%).

По мнению автора, без представления о возможных оперативных вмешательствах на ПЖ полноценное морфологическое исследование, целью которого является не только верификация диагноза, но и определение радикальности операции, едва ли возможно. Полученный для морфологического исследования операционный материал отличался в зависимости от характера и объема хирургического вмешательства (М.В. Данилов, В.Д. Федоров, 1995; Ю.И. Патютко и соавт., 2007).

Для объективизации морфологических изменений при работе с операционным материалом, полученным при резекциях, выполненных по поводу ХП или ПАК ПЖ, соблюдался ряд условий:

— при макроскопическом изучении препарата оценивали размеры удаленной части органа, цвет и сохранность архитектоники (дольчатости) паренхимы, ее плотность и равномерность;

— при гастропанкреатодуоденальной резекции, помимо исследования удаленной части железы, проводили тщательное изучение всех составляющих органокомплекса — части желудка, двенадцатиперстной кишки (ДПК), дистального отдела общего желчного протока, желчного пузыря, начального отдела тощей кишки;

— для оценки радикальности операции, помимо срочного гистологического исследования интраоперационного материала, который в стандартных ситуациях представлял собой кусочки ткани из

краев резекции ПЖ, *главного панкреатического протока* (ГПП) и общего желчного протока, а также лимфоузлов, указанный материал запускали в плановое контрольное исследование;

— при изучении изменений протоковой системы оценивали проходимость основных протоков зондами и по ним вскрывали их просвет, измеряли диаметр протоков в наиболее узкой и широкой их части, описывали состояние слизистой;

— получение корректных гистотопографических срезов обеспечивали вырезкой ткани железы перпендикулярными к ГПП параллельными пластинами толщиной 0,5 см.

В дальнейшем из пластин вырезали фрагменты ткани ПЖ размером 1×1 см из наиболее плотных участков. При наличии в ней и просвете протоков конкрементов их удаляли; для оценки распространения патологического процесса при подозрении или наличии опухоли на исследование обязательно брали фрагменты ткани, прилежащие к ДПК и стенке кишки в области инвазии, и из большого дуоденального сосочка; при наличии опухоли или подозрении на развитие ПАК на фоне ХП исследованию подвергали регионарные лимфоузлы, а также парапанкреатическую клетчатку со всех сторон удаленного фрагмента железы.

Что касается методики изучения операционного материала, получаемого при лапароскопических резекциях ПЖ, которые только начинают внедряться в клиническую практику, то был исследован органокомплекс после гастропанкреатодуоденальной резекции, выполненной полностью лапароскопически (И.Е. Хатьков, В.В. Цвиркун и соавт., 2007). Представлены результаты морфологического изучения операционного материала, полученного в ходе 18 лапароскопических операций. При данных резекциях органокомплекс после удаления помещали в пластиковый контейнер и держали в брюшной полости до конца операции, извлекая препарат после реконструктивного этапа, что диктуется эндовидеохирургическими технологиями.

В связи со сказанным изучение краев резекции общего печеночного протока и ПЖ проводили в процессе выполнения операции сразу после пересечения указанных структур. После пересечения общего печеночного протока на визуально неизменном участке его проксимальную остающуюся культю дополнительно циркулярно дорезали на протяжении 1–2 мм. При этом предлагалось воздержаться от использования коагулирующих инструментов, чтобы не повредить подлежащие морфологическому исследованию ткани. Аналогичным образом после пересечения ПЖ дорезали ее остающуюся культю (дистальную или проксимальную в зависимости от вида резекции) по всей площади среза, что позволяло изучить края ГПП и ткани паренхимы железы. В случае видимого

или предполагаемого распространения опухоли на ДПК или парапанкреатическую клетчатку, прежде всего в зоне мезентериальных сосудов, выполняли дополнительное исследование соответствующих тканей. Благодаря существованию лучшей визуализации при эндовидеохирургических вмешательствах видимые и определенные при срочном гистологическом исследовании границы распространения опухоли совпадали. Окончательное заключение о радикальности операции получали в результате последующего планового морфологического исследования всего операционного материала.

Для иммуногистохимического исследования были использованы маркёры: общий цитокератин, цитокератины 7, 19, 20, эпителиальный мембранный антиген, CD 56, хромогранин А, синаптофизин, серотонин, альфа-1-антитрипсин, РЭА, альфафетопротеин, СА 19-9, S-100, инсулин, гастрин, соматостатин, Ki-67, PCNA, p53, альфа-гладкомышечный актин, виментин (Dako, Дания), матриксные металлопротеиназы-1, 2, 9 и их ингибиторы 1, 2 (Novocastra, Великобритания), MUC 1,2,5AC,6 (Labvision, США), MUC 4 (Santa Cruz, США), коллаген 1, 3 и 5-го типов (Имтек, Россия).

Интенсивность пероксидазной метки для каждого плазматического или мембранного маркёра оценивали полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антиген-позитивных клеток.

Для дальнейшего сравнительного иммуногистохимического исследования выделяли два основных уровня иммунореактивности: низкий, или редуцированная экспрессия белков (–/+), и высокий, или гиперэкспрессия маркёров (++/+++). Определение индексов пролиферации Ki67 и PCNA, а также экспрессии протеина p53 и p16 в ядрах клеток проводилось по той же методике, но вычисляли ядерные онкомаркёры как среднее значение от числа меченых ядер на 100 учтенных (при анализе 500–1000 опухолевых клеток). Подсчет меченых ядер проводился в репрезентативных полях зрения с относительно равномерным распределением опухолевых клеток, сверху вниз и слева направо. Клетки на периферии срезов, где чаще всего наблюдается неспецифическое фоновое окрашивание, не учитывали. Экспрессия белка p53 считалась низкой при окрашивании ядер ≤10% опухолевых клеток и высокой — при количестве антигенпозитивных клеток в первичной опухоли или метастазе >10%.

Площадь структур, окрашенных виментином, гладкомышечным актином-α, различными коллагенами, рассчитывали с помощью программы WCIF ImageJ в пикселях, а затем вычисляли процент площади окрашивания по отношению к площади светового поля. Позитивным контролем для иммуногистохимических исследований в группе муцинов являлись реакции на неизмененных

тканях органов с заранее известной экспрессией маркера, при этом негативный контроль – без первичных антител.

Для определения концентрации СА-19-9, РЭА в сыворотке крови использовали коммерческий набор реагентов фирмы «International CIS». Иммуноморфологическое исследование выполнялось по стандартной методике.

Для детального представления о структурных и функциональных особенностях клеток проведено электронно-микроскопическое исследование материала от 4 больных ХП.

На основании комплексного морфологического, иммуноморфологического, ультраструктурного исследования операционного материала ПЖ пациентов с ХП и ПАК установлено, что фиброз железы является ведущим морфологическим признаком при ХП, имеет стадийный характер, что проявляется различным соотношением I, III и V типов коллагена. ХП является фоновым заболеванием для ПАК ПЖ, что подтверждается изменением молекулярных свойств протокового эпителия.

При тяжелых формах ХП наблюдается последовательное развитие перидуктального, перилобулярного и внутрилобулярного видов фиброза, сопровождающееся нарастанием экспрессии гладкомышечного актина, что свидетельствует о перманентном характере процесса, приводящего в конечном итоге к циррозу паренхимы железы.

Выявленные нарушения баланса между экспрессией матричных металлопротеиназ ММП-1, ММП-9 и их тканевых ингибиторов в сторону снижения экспрессии протеаз способствуют накоплению коллагена во внеклеточном матриксе и стимулируют процесс фиброгенеза.

Нарушения синтеза коллагенов клетками стромы ПЖ, проявляющиеся увеличением экспрессии коллагена III на ранних стадиях ХП, приводят в дальнейшем к продукции секреторными миофибробластами коллагенов I и V типов и формированию необратимых склеротических изменений железы.

Фоновыми изменениями при тяжелых формах ХП, способными привести к развитию рака ПЖ, являются панкреатическая внутриэпителиальная неоплазия (PanIN) и метаплазия протокового или ацинарного эпителия по типу «тубулярных комп-

лексов», которые сопровождаются молекулярными изменениями клеток.

Соблюдение разработанных протоколов морфологического исследования обеспечивает получение максимально возможного представления о характере и степени изменений при ХП и служит основанием для радикального хирургического лечения при его тяжелых формах, что обусловлено необратимостью указанных изменений и высокой вероятностью развития на этом фоне рака.

Уровни СА-19-9 в сыворотке крови имеют диагностическую ценность при ПАК ПЖ в сравнении с уровнем РЭА, но не являются абсолютно специфичным онкомаркером на ранней стадии, особенно при низко- и недифференцированных формах, когда способность к продукции онкобелка резко снижается. Корреляций между уровнем экспрессии СА-19-9 в клетках опухоли и его сывороточным уровнем не выявлено.

Прямая связь между уровнем экспрессии трансмембранных муцинов и адгезивными свойствами клеток ПАК ПЖ делает возможным использование данных онкомаркеров в качестве фактора прогноза. Есть основания считать дополнительное определение экспрессии MUC4 информативным в сложных случаях для дифференциальной диагностики между аденокарциномами протокового типа и ХП.

Для более достоверной оценки радикальности операции, прогноза, выбора стратегии и тактики дальнейшего лечения больных ПАК ПЖ необходимо детальное морфологическое исследование, включающее определение экспрессии муцинов и гистологического варианта с кишечной дифференцировкой.

Диссертация *на соискание ученой степени доктора медицинских наук* выполнена в ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет Росздрава» и клинической больнице № 119 Федерального медико-биологического агентства России.

Научные консультанты: доктор медицинских наук, профессор **Е.Л. Туманова**, доктор медицинских наук, профессор **В.В. Цвиркун**.

Дата защиты: 29.10.2009 на заседании диссертационного совета Д 001.004.01 в Научно-исследовательском институте морфологии человека РАМН.