

На правах рукописи

ТЕН ОЛЕГ АНДРЕЕВИЧ

**ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ
ПЕРИОПЕРАЦИОННОЙ КОРРЕКЦИИ ТОЛСТОКИШЕЧНЫХ
ДИСБИОЗОВ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ**

14.01.12 – Онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Захаренко Александр Анатольевич**

Официальные оппоненты:

Васильев Сергей Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, главный колопроктолог Санкт-Петербурга, Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница №9», главный врач

Кашенко Виктор Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства», заместитель Генерального директора по научно-образовательной работе, главный хирург

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « ____ » _____ 2021 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.052.01 при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России по адресу: 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68, на сайте: www.nioncologii.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Колоректальный рак (КРР) – онкологическое заболевание, которое занимает 3-е место в мире по распространенности и 2-е место по смертности среди взрослого населения (F. Bray et al., 2018). Ежегодно выявляются миллионы новых случаев КРР (R. L. Siegel et al., 2019). В 2018 г. в России в структуре онкологических заболеваний КРР занял 3-е место в мужской (12,1 %) и женской (11,9 %) популяции. В последние годы колоректальный рак занимает 5-е место среди всех онкологических заболеваний в мире. В Российской Федерации ежегодно отмечается увеличение числа больных с впервые выявленным КРР: в 2008 г. зарегистрированы 24671 пациент, в 2011 г. — 26 535, в 2014 г. – 29 — 418, в 2018 г. – 34 351. В 2018 г. В Санкт-Петербурге было зафиксировано 3538 больных с впервые установленным диагнозом КРР (А.Д. Каприн и др., 2018).

К лечению КРР применим комплексный и комбинированный подход. Одним из его основных компонентов является хирургическое вмешательство, результаты которого в последние годы значительно улучшились. С другой стороны, сохраняется достаточно высокий уровень инфекционных осложнений раннего послеоперационного периода (7,1–14, 0%), приводящих к увеличению времени пребывания в стационаре, повторным оперативным вмешательствам, а также повышению летальности (W. H. Jung et al., 2019; S. C. Mayo et al., 2013).

Важную роль в канцерогенезе и развитии инфекционных осложнений играет микрофлора толстой кишки (I. N. Haskins et al., 2016). В настоящее время кишечную микрофлору относят к факторам, оказывающим значительное влияние на развитие и течение болезни (M. Arnold et al., 2017).

Кишечная микробиота представляет собой совокупность обитающих в просвете кишечника микроорганизмов, обладающих собственными

физиологическими, биохимическими характеристиками и метаболическим потенциалом (С. R. Clark et al., 2016).

Хирургическое вмешательство и мероприятия предоперационной подготовки приводят к изменению состава кишечной микрофлоры, что влечет за собой возникновение дисбиозов толстой кишки (ДТК) различной степени тяжести (А. Lederer et al., 2017).

На сегодняшний день общепринята механическая подготовка в комплексе с голоданием, что нередко приводит к избыточному росту патогенной микрофлоры и провоцирует риск послеоперационных осложнений (S. P. Hammond et al., 2014; P. Bucher et al., 2005). На фоне приема слабительных резко падает количество облигатной микрофлоры (М. Д. Ханевич и др., 2003).

Антибиотикопрофилактика доказала свою эффективность в снижении риска послеоперационных осложнений; с другой стороны, следствием ее применения являются нарушения в составе и функционировании микрофлоры, избыточный рост определенных микробов, в том числе патогенных и условно-патогенных, уменьшение колонизационной резистентности толстой кишки, что сопровождается диареей (G. Ianiro et al., 2016; S. Bengmark et al., 1996; R. D'Amico et al., 1998).

Известно, что пациенты со злокачественными новообразованиями толстой кишки имеют более высокий риск развития инфекции, вызванной *Clostridium difficile* и *Clostridium septicum*, что может отрицательно сказываться на субъективном состоянии пациентов, на периоперационном течении заболевания, а также стать причиной прекращения химиотерапии (Е. П. Куликов, 2011; S. C. Mayo et al., 2013; S. H. Cohen et al., 2010).

В качестве метода профилактики инфекционных послеоперационных осложнений описано назначение пре-, пробиотиков (P. Wang et al. 2020), которые препятствуют колонизации толстой кишки патогенными бактериальными штаммами (L. Zaharuddin et al., 2019; T. G. Mullaney et al., 2018; S. Del Carmen et al., 2017; P. J. Watkinson et al., 2007). В последние годы особо актуальным стало

предоперационное превентивное назначение внутрисветных (кишечных) антибактериальных препаратов (J. Migaly et al., 2018).

Несмотря на растущее число публикаций и исследований, посвященных участию кишечной микробиоты в онкогенезе и течении КРР, роль бактерий толстой кишки в течении периоперационного периода остается малоизученной.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на усовершенствование хирургической тактики и техники, достижения анестезиологии и реаниматологии, появление современных антибактериальных препаратов, уровень послеоперационных осложнений и летальность у больных раком толстой кишки остаются достаточно высокими и достигают в различных центрах до 45 %. Особенно обращают на себя внимание пациенты (до 29 % случаев) с развитием послеоперационной диареи (колита), ассоциированной с антибиотиками, клостридиальной инфекцией и или обусловленной другими причинами. Данные пациенты требуют незамедлительного лечения, иначе заболевание переходит в более тяжелые формы, вплоть до фульминантного колита и токсической дилатации толстой кишки. Доказано, что большую роль в развитии послеоперационных осложнений играет состояние микрофлоры толстой кишки.

Цель исследования

Улучшить результаты лечения больных колоректальным раком путем разработки лечебно-диагностического алгоритма (ЛДА) периоперационной коррекции дисбиоза толстой кишки.

Задачи исследования

1. Изучить состояние микрофлоры толстой кишки у больных колоректальным раком в предоперационном периоде.
2. Выявить факторы, влияющие на послеоперационное прогрессирование нарушений микробиоценоза толстой кишки.
3. Предложить комплексную модель оценки неблагоприятного прогноза динамики дисбиоза.
4. Разработать лечебно-диагностический алгоритм и оценить его эффективность в коррекции периоперационных нарушений состава кишечной микробиоты.

Научная новизна исследования

В план предоперационного обследования включена методика исследования кала с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) («КОЛОНОФЛОР-16»). Проведено детальное изучение состояния микрофлоры толстой кишки у пациентов с колоректальным раком в пред- и послеоперационном периодах. Подтвержден факт прогрессирования дисбиоза в послеоперационном периоде под влиянием определенных факторов, изучена их взаимосвязь. Разработана и предложена комплексная модель оценки риска прогрессирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде, имеющая высокую степень чувствительности и специфичности. Модель позволяет выявить пациентов с высоким риском прогрессирования толстокишечного дисбиоза в послеоперационном периоде, провести персонализированную коррекцию нарушений микрофлоры, что будет способствовать снижению частоты послеоперационных осложнений и улучшению качества жизни больных с колоректальным раком в отдаленном послеоперационном периоде.

Практическая значимость исследования

Разработанный лечебно-диагностический алгоритм позволяет более детально изучить состояние микрофлоры толстой кишки и степень толстокишечного дисбиоза с последующим проведением персонализированной периоперационной коррекции. Изучение качественного и количественного состава микробиоты, а также комплексная модель оценки риска, в дополнение к общепринятым методам, позволяют прогнозировать динамику дисбиоза при отсутствии клинических проявлений в предоперационном периоде, снизить риск послеоперационных осложнений, индивидуализировать подход к выбору лечебной тактики.

Методология и методы исследования

В основе методологии диссертационной работы – современные теоретические и практические основы отечественной и зарубежной онкологии. Диссертационная работа основана на использовании общенаучных и специальных методов познания. Формированию цели и задач исследования, подходов и средств к их решению послужил анализ опубликованных отечественными и зарубежными авторами исследований. Работа состоит из четырех глав и выполнена с использованием диагностических, клинических, морфологических и статистических методов.

Первый этап исследования характеризуется диагностической и клинической направленностью, основанной на дооперационной оценке состояния микрофлоры толстой кишки методом ПЦР у 163 больных, страдающих колоректальным раком T1-4N1-2M0, которым планировалось радикальное лечение. Предложен лечебно-диагностический алгоритм, основанный на предоперационной коррекции дисбиоза толстой кишки (ДТК) пациентам с высоким риском его прогрессирования, рассчитанным по разработанной комплексной модели. Оценена диагностическая значимость

определения микрофлоры толстой кишки методом ПЦР. Данный метод более чувствителен, позволяет определить более широкий спектр бактерий, время ожидания результата значительно меньше по сравнению с таковым при бактериологическом посеве.

На втором этапе выполнен анализ результатов лечения 48 пациентов по предложенному лечебно-диагностическому алгоритму. В группу сравнения вошли 51 пациент с высоким риском прогрессирования ДТК, которым предоперационную коррекцию толстокишечного дисбиоза не проводили. Оценивали состояние толстокишечной микрофлоры после операции, послеоперационные осложнения, качество жизни. Отмечено, что персонифицированный подход при планировании и выборе предоперационной коррекции ДТК снижает риск послеоперационных осложнений, а также улучшает качество жизни больных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У всех больных раком толстой кишки в предоперационном периоде имеются изменения микрофлоры толстой кишки различной степени выраженности.
2. Хирургическое вмешательство приводит к прогрессированию фонового дисбиоза толстой кишки у 100 % больных.
3. Неблагоприятными прогностическими факторами, способствующими прогрессированию дисбиоза толстой кишки, являются локализация опухоли в правых отделах ободочной кишки, опухолевый стеноз, предоперационная антибактериальная терапия, применение слабительных, наличие фонового дисбиоза.
4. Предложенная модель оценки риска прогрессирования дисбиоза с использованием выделенных показателей обладает высокой степенью чувствительности, специфичности и диагностической точности.

5. Разработанный ЛДА обеспечивает персонализированный подход к коррекции нарушений толстокишечного микробиоценоза, снижает число послеоперационных осложнений и улучшает качество жизни больных с высоким риском прогрессирования кишечного дисбиоза.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена апробацией методологии исследования; проведением исследования на практическом уровне; методами, адекватными цели и задачам исследования; использованием качественной и количественной оценки результатов; статистическим подтверждением значимости полученных данных; эффективным внедрением разработанного лечебно-диагностического алгоритма в практику диагностики и хирургического лечения больных колоректальным раком.

Основные результаты, изложенные в работе, были представлены и обсуждены на:

– III конгрессе Сообщества специалистов по онкологической колопроктологии «Периоперационные особенности микробиоценоза толстой кишки у больных колоректальным раком и методы их коррекции» (Россия, Москва, 19–21 октября 2016 г.);

– American society of colon and rectal surgeons «A method for evaluating colon postoperative dysbiosis in colorectal cancer patients» (USA, Seattle, Washington, 10–14 июня 2017 г.);

– Национальном хирургическом конгрессе — XX Юбилейном съезде РОЭХ «Способ оценки риска развития дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде у больных колоректальным раком» (Россия, Москва, 4–7 апреля 2017 г.);

– XI Международной конференции. Российская школа колоректальной хирургии «Лечебно-диагностический алгоритм периоперационной коррекции

нарушений микробиоценоза толстой кишки у больных колоректальным раком» (Россия, Москва, 1–3 июня 2018 г.);

– в Хирургическом обществе Пирогова «Периоперационные изменения кишечного микробиоценоза у больных раком толстой кишки» (Россия, Санкт-Петербург, 26 декабря 2018 г.);

– Петербургском Международном онкологическом форуме «Белые ночи» «Периоперационные изменения кишечного микробиоценоза у больных колоректальным раком» (Россия, Санкт-Петербург, 20–23 июня 2019 г.).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены и активно используются в практической работе онкологических отделений НИИ хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России (197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8).

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах исследования, в получении исходных данных, в том числе в определении идеи работы и планировании исследования. Автор участвовал в выполнении всех хирургических операций в основной группе пациентов и в группе сравнения; сравнил анализы полученных результатов ПЦР образцов кала, провел статистическую обработку полученного материала. Исследователь лично участвовал в планировании и формировании научных гипотез, статистической обработке данных, обобщении и анализе результатов исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспортам специальностей 14.01.12 – «Онкология», пункту 6, медицинской отрасли науки.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 120 страницах, состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и списка сокращений. Библиографический указатель включает в себя 86 публикаций, в том числе 8 отечественных и 78 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 41 рисунком, 27 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн исследования

Исследование включало в себя следующие этапы.

I этап: проспективный набор пациентов ($n=163$) в группу сравнения (ГС) с целью изучения состава толстокишечной микробиоты у больных колоректальным раком в периоперационном периоде с помощью метода ПЦР («КОЛОНОФЛОР-16»).

II этап: статистический анализ результатов ПЦР-диагностики кала больных ГС ($n=163$) с целью выявления «неблагоприятных» факторов, достоверно связанных с прогрессированием нарушений микробиоценоза толстой кишки после операции, с последующим построением комплексной модели на основе логистического регрессионного анализа.

III этап: разработка лечебно-диагностического алгоритма (ЛДА), основанного на оценке риска прогрессирования ДТК по разработанной

формуле. Проспективный набор пациентов (n=48) основной группы (ОГ), лечение которых проводилась по предложенному ЛДА.

IV этап: оценка эффективности предложенного лечебно-диагностического алгоритма путем сравнения результатов лечения ОГ (n=48) и ГС (n=51). Из ГС исключены пациенты с низким риском прогрессирования толстокишечного дисбиоза, ретроспективно оцененного по предложенной формуле.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 211 пациентов с гистологически подтвержденным раком ободочной кишки и верхнеампулярного отдела прямой кишки (I–III стадии): 163 пациента группы сравнения и 48 – основной группы, проходивших обследование и лечение в онкологическом отделении № 1 ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в период с 2017 по 2019 г. Исследование получило одобрение локального этического комитета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, протокол № 05/2017 от 23.05.2017г. Критерии невключения в исследование: наличие отдаленных метастазов (M1), неоадьювантная химиотерапия в анамнезе, наличие хронических воспалительных заболеваний толстой кишки, открытый доступ оперативного вмешательства. Критерии исключения: конверсия доступа при лапароскопической операции. Пациенты группы сравнения (ГС) и основной группы (ОГ) были сопоставимы по возрасту, полу, локализации опухоли, объему оперативных вмешательств (предлагаю перенести выше, отмечено).

Все пациенты оперированы в плановом порядке, лапароскопическим доступом. Выбор оперативного вмешательства зависел от локализации опухолевого процесса. При определении объема лимфодиссекции (ЛД) использовали Японскую классификацию лимфатических узлов ободочной и прямой кишки (Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum, 2010 г.). Предоперационная подготовка кишечника включала в себя бесшлаковую диету

в течение 7 суток перед операцией. Очистительные клизмы выполняли пациентам со стенозирующей опухолью (просвет непроходим для колоноскопа в комплексе с клинической картиной субкомпенсированных нарушений кишечной проходимости). Всем больным проводили антибиотикопрофилактику: внутривенное введение дозы антибиотика Цефуроксим 1,5 г + Метронидазол 0,5 г за 30–40 мин до операции и двукратное послеоперационное введение в течение 24 ч (Приказ № 720 от 15.12.2014 г. «Инструкция о применении антимикробных лекарственных средств для первичной профилактики инфекций в области хирургического вмешательства в клинике ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России»).

Характеристика групп пациентов

Всем пациентам группы сравнения (n=163) при поступлении перед операцией выполнен анализ кала методом ПЦР («КОЛОНОФЛОР-16») с целью оценки исходного состояния микрофлоры толстой кишки. Предоперационную коррекцию ДТК не проводили. Повторное исследование кала проводили на 10-е и 45-е сутки после операции. С помощью многофакторного статистического анализа полученных результатов выявлены факторы, воздействующие на состав микрофлоры толстой кишки, и построена комплексная модель на основе логистического регрессионного анализа. Все полученные данные проанализированы с использованием компьютерной системы «Statistica for Windows» (версия 10.0.1011.6, StatSoft, Inc., 2011). Сравнение параметров в группах исследования проведены с помощью критериев Манна – Уитни, Колмогорова – Смирнова, медианного, хи-квадрат (χ^2) и модуля ANOVA. Оценка частот выполнена с помощью критериев χ^2 , Пирсона, Фишера.

Предложенная модель оценки риска прогрессирования ДТК ретроспективно применена у всех пациентов группы сравнения (n=163). Риск развития ДТК был высоким у 51 больного. Эти пациенты и составили ГС при сравнении результатов лечения с ОГ.

В основную группу (n=48) включены пациенты с высоким риском прогрессирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде, пролеченные по разработанному ЛДА. Пациентам данной группы проведена предоперационная коррекция ДТК в течение 7 дней согласно «Протоколу ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (Приказ Минздрава России № 231 от 09.06.2003 г., Москва).

При сравнении ОГ с ГС оценивали послеоперационные осложнения, длительность послеоперационного лечения, качество жизни, динамику нормализации кишечной микробиоты по результатам ПЦР кала. Характеристика больных по полу, возрасту, локализации и стадии опухолевого процесса, объему выполненной операции в основной группе и группе сравнения приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика клинических наблюдений

Критерий оценки		Число пациентов, n (%)	
		основная группа (n=48)	группа сравнения (n=51)
Пол	Мужчины	19 (39,6)	21 (41,2)
	Женщины	29 (60,4)	30 (58,8)
Возраст, лет	45–59	5 (10,4)	7 (13,7)
	60–76	33 (68,8)	35 (68,6)
	75–90	10 (20,8)	9 (17,6)
Локализация опухоли	Слепая кишка	9 (18,7)	10 (19,6)
	Восходящая ободочная кишка	3 (6,3)	2 (3,9)
	Печеночный изгиб	6 (12,5)	5 (9,8)
	Поперечная ободочная кишка	1 (2,1)	1 (2,0)
	Селезеночный изгиб	4 (8,3)	5 (9,8)
	Нисходящая ободочная кишка	2 (4,2)	1 (2,0)
	Сигмовидная кишка	7 (14,6)	9 (17,6)
	Ректосигмоидный отдел	6 (12,5)	7 (13,7)
	Прямая кишка (верхнеампулярный отдел)	10 (20,8)	11 (21,6)

Окончание таблицы 1

Критерий оценки		Число пациентов, n (%)	
		основная группа (n=48)	группа сравнения (n=51)
Степень дифференцировки	Высокодифференцированная аденокарцинома	11 (22,6)	10 (19,6)
	Умеренно дифференцированная аденокарцинома	32 (66,7)	35 (68,6)
	Низкодифференцированная аденокарцинома	5 (10,4)	6 (11,8)
Стадия опухолевого процесса (pTNM7)	I	11 (25,0)	11 (21,6)
	IIA	3 (6,2)	4 (7,9)
	IIB	1 (2,1)	2 (3,9)
	IIC	3 (6,2)	2 (3,9)
	IIIA	15 (31,3)	18 (35,3)
	IIIB	13 (27,1)	12 (23,5)
	IIIC	1 (2,1)	2 (3,9)
Объем операции	Правосторонняя гемиколэктомия	12 (25,0)	12 (23,5)
	Расширенная правосторонняя гемиколэктомия	7 (14,6)	6 (11,8)
	Левосторонняя гемиколэктомия	2 (4,2)	3 (5,9)
	Расширенная левосторонняя гемиколэктомия	4 (8,3)	5 (9,8)
	Резекция сигмовидной кишки	11 (22,9)	12 (23,5)
	Передняя резекция прямой кишки	12 (25,0)	13 (25,5)

Лечебно-диагностический алгоритм

Учитывая результаты анализа данных ПЦР кала больных ГС (n=163), предложен ЛДА, основанный на предоперационной коррекции ДТК у больных высокого риска, определенного по разработанной формуле.

Периоперационная коррекция дисбиоза включала в себя деконтаминацию условно-патогенной и патогенной микрофлоры антибактериальными препаратами в зависимости от результатов анализа ПЦР кала. Антибактериальная терапия назначалась при повышении уровня условно-патогенной или диагностировании патогенной микрофлоры. Препаратами выбора были Метронидазол (250 мг 4 раза в сутки в течение недели),

Рифаксимин (200 мг 3 раза в сутки в течение недели), Ванкомицин (250 мг 4 раза в сутки в течение недели). При аэробно-анаэробном дисбалансе назначали/дополняли терапию пре- и пробиотиками (Энтерол по 1 капсуле 1–2 раза в день, Бифиформ по 1 капсуле 2–3 раза в сутки, Хилак форте 40–60 капель 3 раза в день, Линекс по 1–2 капсуле 3 раза в день и т. д. Дозировки и кратность приема подбирали индивидуально в зависимости от выраженности нарушений микрофлоры) с целью восстановления нормального соотношения микрофлоры толстой кишки.

После хирургического лечения проводили повторный ПЦР-анализ кала на дисбиоз толстой кишки на 10-е и 45-е сутки, с целью дальнейшей его коррекции и профилактики отдаленных осложнений.



Рисунок 1 – Лечебно-диагностический алгоритм

Методы лабораторных исследований

Всем пациентам в объем лабораторных методов исследования были включены общий анализ мочи, клинический анализ крови, биохимический анализ крови (общий белок, глюкоза, амилаза, общий билирубин и его фракции, АсАТ, АлАТ, мочевины, креатинин, коагулограмма, электролиты), анализ крови на онкомаркеры РЭА и СА-19-9. Исследования крови и мочи проводили на анализаторах AVL 9130 (Австрия), CLIMAMC-15 (Испания), BTS 305 (Испания).

Методы инструментальных исследований

В обязательном порядке всем больным выполняли электрокардиографию (на аппарате Fukuda Cardiomax FX-3010, Япония), видеоэзофагогастродуоденоскопию (ВЭГДС) (процессор Olympus EVIS EXERA II, аппарат Olympus GIF-Q180, Япония), тотальную видеокOLONOSKOPIЮ (ВКС) (процессор Olympus CF-V701, Япония) с биопсией, ирригоскопию (АРЦ-«ОКО» НИПК «Электрон», Россия), мультиспиральную компьютерную томографию (аппарат GE Optima 660, США) брюшной полости с контрастированием и грудной клетки магнитно-резонансную томографию (аппарат GE Signa HDxt, США) с внутривенным контрастированием и многофазным сканированием брюшной полости, при наличии противопоказаний к введению йодсодержащих контрастных препаратов.

Оценка функционального статуса с целью подготовки к хирургическому лечению включала в себя эхокардиографию, холтеровское суточное мониторирование сердечной деятельности, оценку функции внешнего дыхания, ультразвуковую доплерографию сосудов шеи и нижних конечностей, консультации специалистов.

Помимо стандартного лабораторно-инструментального набора исследований, необходимого для лечебно-диагностических мероприятий при колоректальном раке, выполняли забор кала с целью исследования микробиоты

толстой кишки методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией в реальном времени «КОЛОНОФЛОР-16». Анализ выполняли за 10 суток до операции и на 10- и 45-е сутки после операции.

Взятие, транспортирование и хранение каловых масс проводили в строгом соответствии с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР (полимеразная цепная реакция) диагностики», разработанными ФБГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Москва, 2012 г.).

Использовали метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением набора реагентов «КОЛОНОФЛОР-16», который включает в себя смесь для ПЦР-амплификации, специфичную для ДНК всех бактерий (общая бактериальная масса); смеси для амплификации, специфичные для каждого выявляемого вида (или группы) бактерий. Перечень выявляемых микроорганизмов приведен в таблице 2.

Таблица 2 – Перечень выявляемых микроорганизмов, состав стрипов и каналы детекции результатов амплификации

«КОЛОНОФЛОР-16»			
Номер пробирки в стрипе	Название смеси для амплификации		Цвет буфера
	FAM	HEX	
Стрип 1			
1	Общая бактериальная масса		Голубой
2	<i>Lactobacillus spp.</i>		Бесцветный
3	<i>Bifidobacterium spp.</i>		Бесцветный
4	<i>Escherichia coli</i>		Бесцветный
5	<i>Bacteroides fragilis group</i>		Бесцветный
6	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>		Бесцветный
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Бесцветный
8	<i>Candida spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Бесцветный
Стрип 2			
1	<i>Escherichia coli</i> <i>enteropathogenic</i>		Голубой

Окончание таблицы 2

2	<i>Enterococcus spp.</i>		Бесцветный
3	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		Бесцветный
4	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	Бесцветный
5	<i>Proteus spp.</i>		Бесцветный
6	<i>Enterobacter spp. / Citrobacter spp.</i>		Бесцветный
7	<i>Fusobacterium nucleatum</i>		Бесцветный
8	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Shigella spp.</i>	Бесцветный

Для определения степени дисбиоза толстой кишки использовали классификацию дисбиозов кишечника в соответствии с Национальным руководством «Инфекционные болезни» (Москва, 2009 г.), в которой выделено четыре степени нарушений кишечной микрофлоры.

Результаты исследования

Особенности кишечной микробиоты у больных группы сравнения

В результате анализа кала методом ПЦР («КОЛОНОФЛОР-16») у всех больных группы (n=163) в пред- и послеоперационном периодах были обнаружены качественные и количественные изменения в составе бактериальной флоры, которые проявлялись достоверным уменьшением количества лакто- и бифидобактерий и увеличением условно-патогенной флоры (рисунок 2).

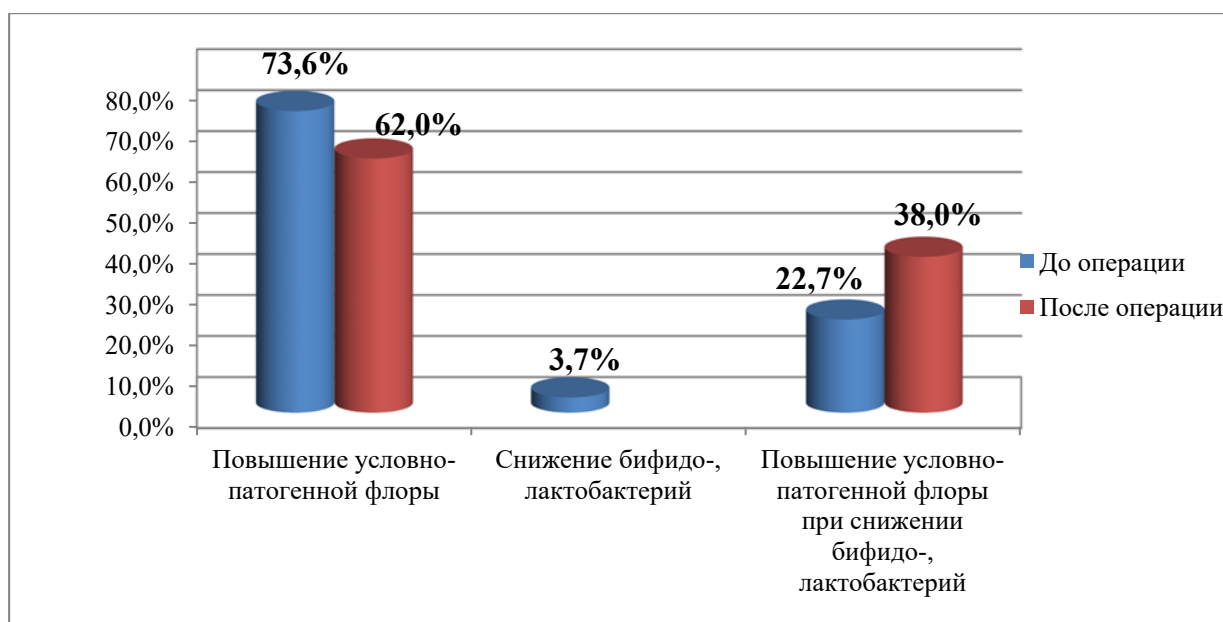


Рисунок 2 – Характер нарушений состава микрофлоры толстой кишки в послеоперационном периоде у больных группы сравнения

Сравнение степеней ДТК в пред- и послеоперационных периодах показало его прогрессирование у всех пациентов ГС. До операции преобладали больные с незначительными изменениями в микрофлоре толстой кишки: I степень – у 93 (57,1 %) больного, II степень – у 54 (33,1 %); незначительную часть составили пациенты с III степенью – 16 (9,8 %), с IV степенью ДТК пациентов не было. Клинические проявления отмечены не были. На 10-е сутки после операции значительно увеличилось количество условно-патогенной флоры, резко снизились показатели анаэробной флоры. Выросло число пациентов со II и III степенью ДТК, и появились 8 (4,9 %) больных с IV степенью ДТК (рисунок 3).

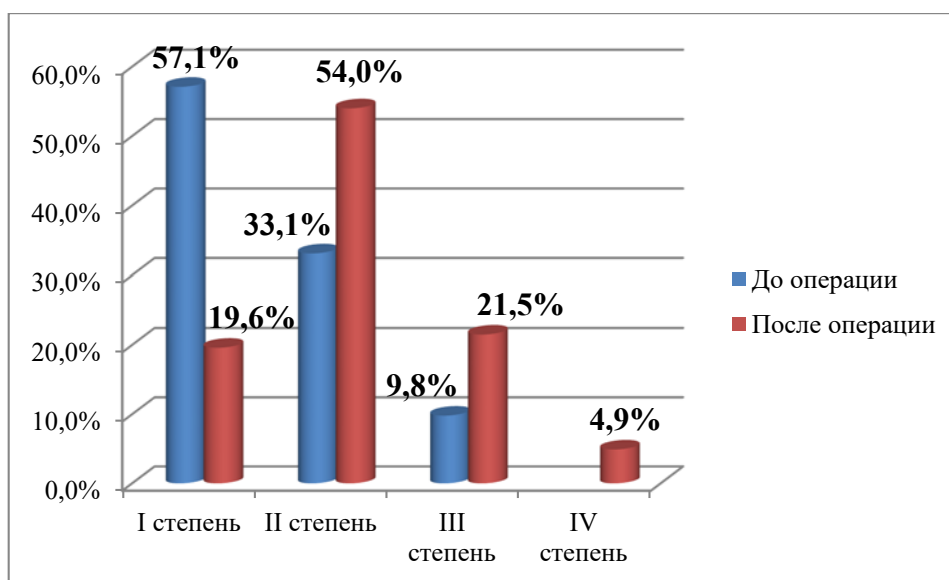


Рисунок 3 – Динамика прогрессирования дисбиоза толстой кишки после оперативного лечения у пациентов группы сравнения

Разработка модели прогноза динамики дисбиоза толстой кишки у больных колоректальным раком

В процессе анализа динамики дисбиоза пациентов группы сравнения были выделены пять значимых показателей: прием слабительных, наличие опухолевого стеноза, назначение антибактериальных препаратов, локализация опухолевого процесса, исходный ДТК.

На основе данного комплекса из 5 значимых факторов получено уравнение логистической регрессии, которая позволяет рассчитать вероятность явления в зависимости от степени выраженности и степени влияния одного или группы предикатных признаков (риск прогрессирования, положительный эффект при $y > 0,5$, отрицательный при $y \leq 0,5$). Параметры логистической функции Ψ оптимальной модели приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Комплекс модельных характеристик для оценки прогрессирования толстокишечного дисбиоза посредством логистической регрессии

Параметр модели	Обозначение переменных	Величина коэффициента А	Ранг прогностической значимости
Свободный член	В	1,758	
Исходный дисбиоз	X5	-4,905	1
Диагноз	X4	-1,761	2
Антибиотикотерапия в предоперационном периоде	X3	-1,691	3
Стеноз	X2	-1,562	4
Прием слабительных	X1	-0,553	5

Логистическая функция определяется как:

$$\Psi = B + A1 \cdot X1 + A2 \cdot X2 + A3 \cdot X3 + A4 \cdot X4 + A5 \cdot X5.$$

Подставив коэффициенты из таблицы 2, получим Ψ для оценки риска отрицательной динамики дисбиоза толстой кишки:

$$\Psi = 1,758 + (-0,553) \cdot X1 - 1,562 \cdot X2 - 1,691 \cdot X3 - 1,761 \cdot X4 - 4,905 \cdot X5.$$

Коэффициент регрессии описывает размер вклада соответствующего фактора. При положительном значении коэффициента регрессии уменьшается риск прогрессирования дисбиоза данного фактора. При отрицательном коэффициенте данный фактор увеличивает риск прогрессирования толстокишечного дисбиоза. Общее значение коэффициентов регрессии определяет влияние на совокупный риск.

Комплексная оценка прогрессирования толстокишечного дисбиоза для конкретного больного зависит от всех значений, входящих в данное уравнение.

Для оценки прогрессирования дисбиоза необходимо рассчитать Ψ (ось абсцисс), затем по логистической кривой $y = \exp(\psi)/(1 + \exp(\psi))$ (ось ординат) определить вероятность прогрессирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде (рисунок 4).

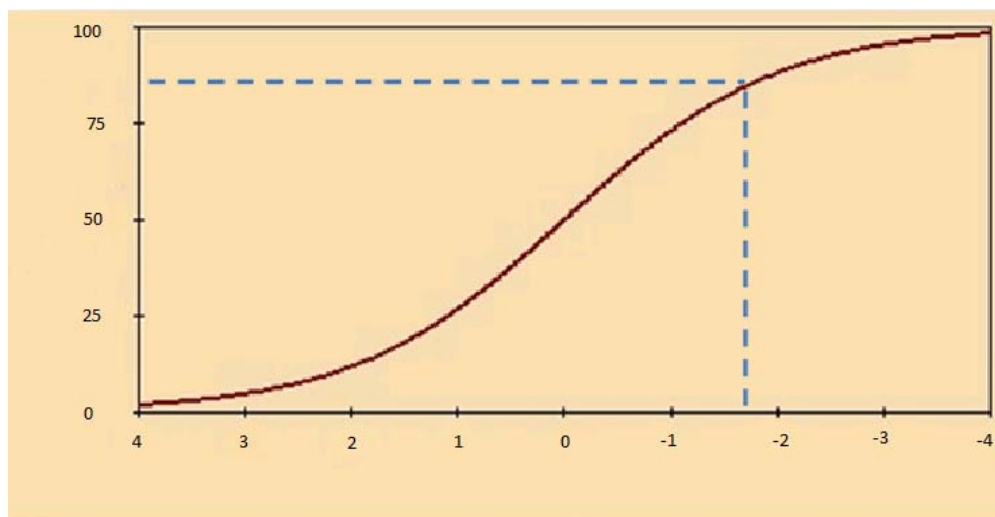


Рисунок 4 – Логистическая кривая:

$\Psi < -2,94$ – риск прогрессирования более 95 %;

$\Psi < 0$ – риск прогрессирования более 50%;

$\Psi > 0$ – риск прогрессирования менее 50%;

$\Psi > 2,94$ – риск прогрессирования менее 5%

Данная модель обладает чувствительностью 90,55 %, специфичностью 91,67 %, диагностической точностью 91,00 %.

Оценка эффективности предложенного лечебно-диагностического алгоритма

В предоперационном периоде характер нарушений кишечного микробиоциноза был сопоставим в обеих группах (рисунок 5).

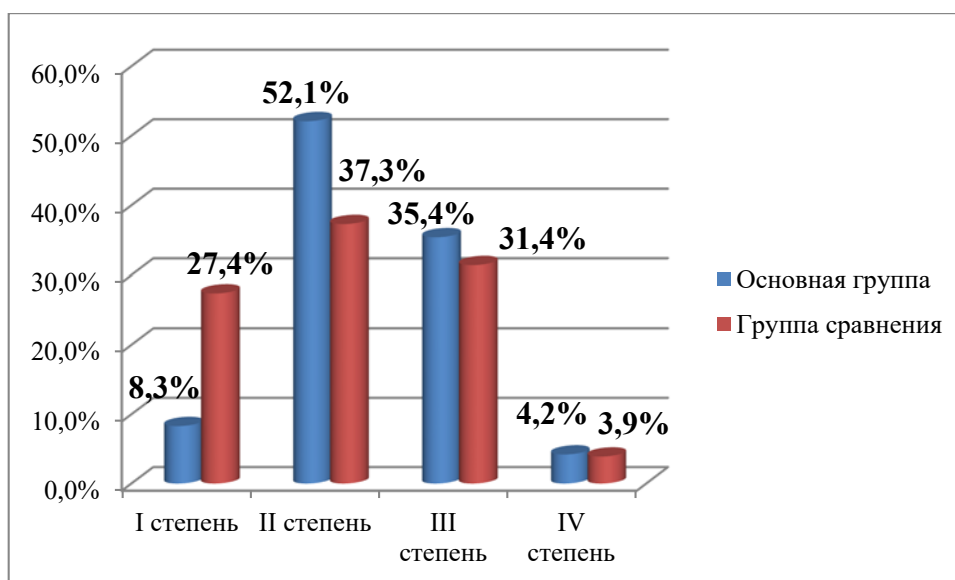


Рисунок 5 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по степени дисбиоза толстой кишки в предоперационном периоде

В послеоперационном периоде картина ДТК сильно отличалась в двух группах. В группе сравнения ДТК прогрессировал, значительно выросло число пациентов со II и IV степенью тяжести ДТК. В основной группе больных признаков прогрессирования ДТК выявлено не было. У большинства пациентов результаты анализа ПЦР кала на 10-е сутки после операции оказались лучше, чем при поступлении в клинику (рисунок 6).

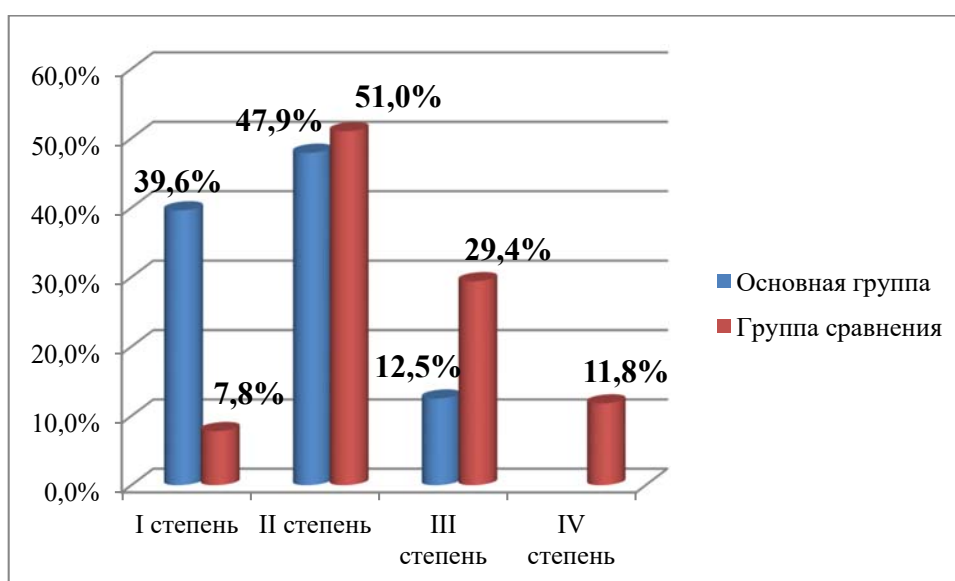


Рисунок 6 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по степени дисбиоза в послеоперационном периоде

В соответствии с классификацией хирургических осложнений Clavien – Dindo, осложнения II и III степени в двух группах достоверно не отличались ($p>0,005$). Выявлена значительная разница в осложнениях I степени – 4 (8,3 %) пациента ОГ и 9 (17,6 %) пациентов ГС ($p<0,005$). Пациенты предъявляли жалобы преимущественно на наличие диареи (2 (4,2 %) больных в ОГ и 7 (13,7 %) пациентов ГС) (таблица 4).

Таблица 4 – Хирургические осложнения по классификации Clavien – Dindo

Степень	Хирургическое осложнение	Основная группа (n=48), n (%)	Группа сравнения (n=51), n (%)
I	Диарея	2 (4,2)	7 (13,7)
	Запор	1 (2,1)	2 (3,9)
	Колит	–	2 (3,9)
	Тошнота	–	2 (3,9)
	Метеоризм	1 (2,1)	4 (7,8)
	Нагноение послеоперационной раны	1 (2,1)	2 (3,9)
II	Кровотечение из зоны анастомоза	–	1 (1,95)
III	Абсцесс брюшной полости	–	1 (1,95)
	Несостоятельность анастомоза	1 (2,1)	1 (1,95)
Число пациентов с послеоперационными осложнениями		5 (10,4)	12 (23,5)

Выявленные в послеоперационном периоде нарушения кишечной микрофлоры у больных ОГ корректировались амбулаторно.

На 45-е сутки после оперативного вмешательства выполнен повторный анализ ПЦР кала для оценки микробиоценоза толстой кишки. Было отмечено, что для восстановления облигатной микрофлоры требуется длительное время, ДТК был отмечен практически у 90 % пациентов. В ОГ данные нарушения

были незначительны, преобладали пациенты с I и II степенью ДТК – 23 (47,9 %) и 15 (31,2 %) соответственно. В ГС преобладали пациенты со II степенью – 28 (54,9 %), также отмечались пациенты с III и IV степенью ДТК – 7 (13,7 %) и 3 (5,9 %) соответственно. ДТК отсутствовал в ОГ у 8 (16,7 %) больных, в ГС таких больных было только 2 (3,9 %).

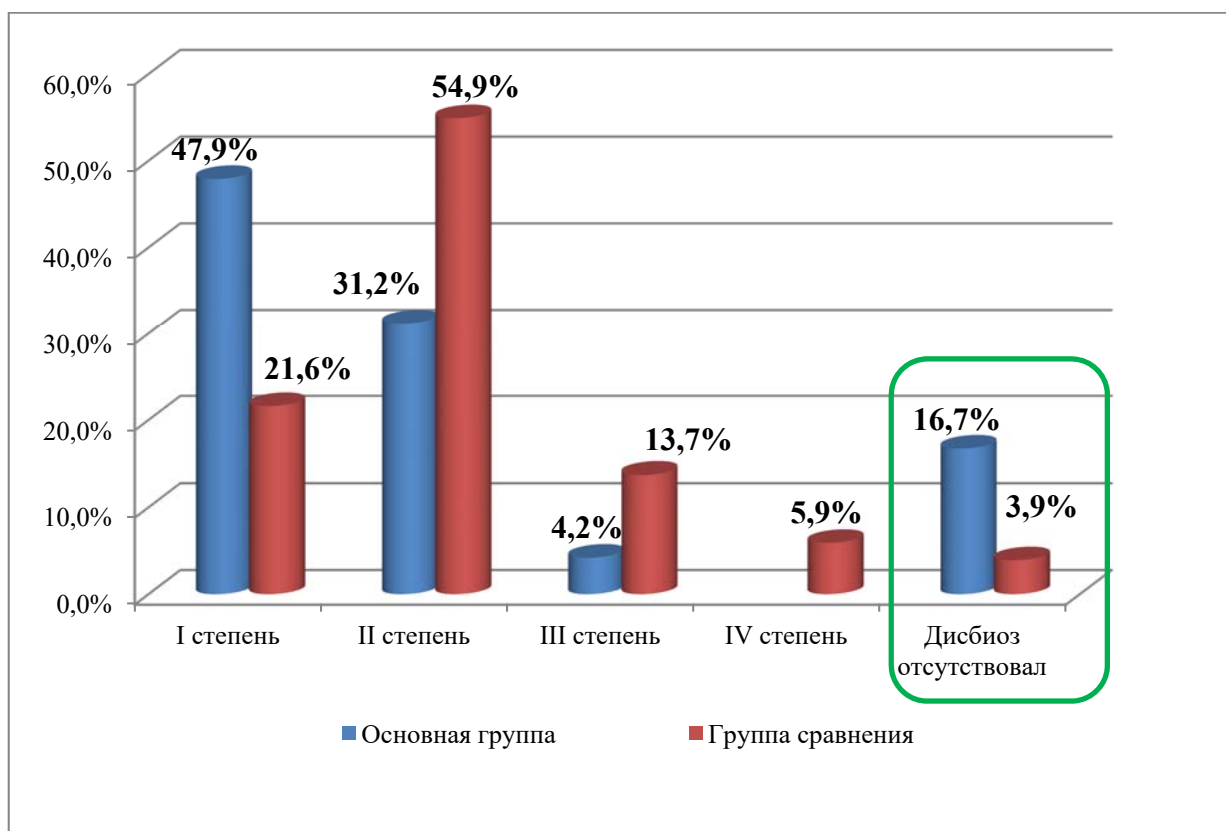


Рисунок 7 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по степени дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде (45-е сутки)

При оценке качества жизни по опроснику «EORTC QLQ-C30» достоверных статистических различий среди функциональных шкал выявлено не было. Однако при оценке симптоматических шкал (боль, бессонница, снижение аппетита, запор, диарея) были отмечены существенные отличия. Пациенты ГС чаще предъявляли жалобы, связанные с наличием ДТК (частый, жидкий стул, метеоризм, боли в животе, снижение аппетита, слабость) (таблица 5).

Таблица 5 – Сравнительная таблица оценки качества жизни в группах больных с колоректальным раком после операции (45 суток), баллы

EORTC QLQ-C30	Основная группа	Группа сравнения	Значение P
Глобальный статус здоровья	(66,37±3,6)	(61,83±4,0)	0,097
RF. Физическое функционирование	(69,43±8,0)	(61,45±8,6)	0,216
RF. Ролевое функционирование	(81,3±5,3)	(76,34±6,1)	0,173
EF. Эмоциональное функционирование	(80,7±4,2)	(82,3±5,4)	0,603
CF. Когнитивное функционирование	(83,35±3,1)	(84,54±4,4)	0,657
SF. Социальное функционирование	(82,81±5,6)	(79,63±7,9)	0,165
FA. Усталость	(24,14±3,9)	(26,29±5,2)	0,512
NV. Тошнота и рвота	(13,25±2,6)	(13,72±2,2)	0,253
PA. Боль	(24,55±3,9)	(27,86±5,4)	0,778
DY. Одышка	(13,47±4,6)	(14,81±5,8)	0,141
SL. Бессонница	(14,62±5,1)	(22,73±7,0)	0,077
AP. Снижение аппетита	(18,12±5,4)	(24,15±6,0)	0,417
CO. Запор	(14,75±4,2)	(35,62±5,2)	0,009
DI. Диарея	(16,37±1,8)	(39,75±3,3)	0,027
FI. Финансовые трудности	(15,21±2,3)	(14,55±4,2)	0,461

По результатам разработанного ЛДА получен патент на изобретение № 2664623 от 21.08.2018 г. «Способ прогнозирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде».

ВЫВОДЫ

1. В предоперационном периоде у всех больных группы сравнения (n=163) диагностирован дисбиоз толстой кишки: I степени – 57,1 % (n=93); II степени – 33,1 % (n=54); III степени – 9,8 % (n=16).

2. Основными факторами, способствующими прогрессированию изменений микрофлоры толстой кишки, являются прием слабительных и антибактериальных препаратов, локализация опухоли в правом фланге ободочной кишки, наличие опухолевого стеноза, исходный дисбиоз толстой кишки.
3. Предложенная модель оценки риска прогрессирования дисбиоза с использованием выделенных показателей обладает высокой степенью чувствительности – 90,55 %, специфичности – 91,67 % и диагностической точности – 91,00 %.
4. Разработанный лечебно-диагностический алгоритм включает в себя предоперационную оценку состояния микрофлоры, определение риска прогрессирования дисбиоза толстой кишки по разработанной формуле, проведение коррекции нарушений кишечной микрофлоры в предоперационном периоде при высоком риске прогрессирования.
5. Эффективность предложенного лечебно-диагностического алгоритма подтверждена снижением уровня послеоперационных осложнений с 23,5 до 10,4 % и улучшением качества жизни пациентов в послеоперационном периоде.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выявления группы больных с высоким риском прогрессирования нарушений микробиоценоза толстой кишки в послеоперационном периоде рекомендуется использовать предложенную модель, которая обладает высокой чувствительностью и специфичностью и позволяет рутинно не проводить качественный и количественный состав кишечной микробиоты методом ПЦР.
2. Всем пациентам с высоким риском прогрессирования дисбиоза толстой кишки показано проведение предоперационной коррекции выявленных нарушений кишечной микрофлоры, которая в большинстве случаев

заключается в назначении внутрисветных антибактериальных препаратов и пре-, пробиотиков.

3. В послеоперационном периоде (через 45 суток) целесообразно выполнять анализ кала методом ПЦР с возможной последующей лекарственной коррекцией выявленных нарушений.

Перспективы разработки темы

В ходе анализа результатов выполненной нами предоперационной оценки состояния микрофлоры толстой кишки у всех больных колоректальным раком выявлен ДТК. Отмечается положительный эффект после деконтаминации толстой кишки внутрисветными антибактериальными препаратами, что подтверждено многими исследованиями. Однако остаются открытыми вопросы, насколько положительно пробиотики, совместно с антибактериальными препаратами, влияют на восстановление микрофлоры, возможно ли использование только пробиотиков без антибиотиков. Также необходимо установить, влияет ли состав микробиоты на возникновение серьезных осложнений, например, таких, как несостоятельность анастомоза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Багненко, С. Ф.** Периоперационные изменения кишечного микробиоценоза у больных раком толстой кишки / С. Ф. Багненко, А. А. Захаренко, А. Н. Суворов, О. А. Тен [и др.] // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. – 2016. – Т. 175, № 6. – С. 33–37.
2. **Багненко, С. Ф.** Периоперационные изменения микрофлоры толстой кишки у больных колоректальным раком / С. Ф. Багненко, А. А. Захаренко, А. Н. Суворов, О. А. Тен [и др.] // Медлайн.Ру. Онкология. – 2015. – Т. 16, 30 нояб. – С. 1302–1316.

3. **Захаренко, А. А. Лечебно-диагностический алгоритм периоперационной коррекции толстокишечных дисбиозов у больных колоректальным раком / А. А. Захаренко, М. А. Беляев, О. А. Тен [и др.] // Вопросы онкологии. – 2019. – Т. 65, № 4. – С. 516–523.**
4. **Захаренко, А. А. Нарушения микробиоценоза кишечника у больных колоректальным раком и способы их коррекции (обзор литературы) / А. А. Захаренко, А. Н. Суворов, И. В. Шлык, О. А. Тен [и др.] // Колопроктология. – 2016. – № 2. – С. 48–56.**
5. **Захаренко, А. А. Периоперационные изменения микробиоценоза в хирургическом лечении больных колоректальным раком (обзор литературы) / А. А. Захаренко, В. В. Семиглазов, О. А. Тен [и др.] // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. – 2019. – Т. 178, № 5. – С. 132–138.**
6. **Захаренко, А. А. Применение фекальной трансплантации при лечении неклостридиального антибиотик-ассоциированного колита (клинический случай) / А. А. Захаренко, И. В. Шлык, А. Н. Суворов, О. А. Тен [и др.] // Колопроктология. – 2017. – № 2. – С. 75–79.**
7. **Захаренко, А. А. Современные способы лечения кишечных дисбиозов у больных раком толстой кишки / А. А. Захаренко, А. Н. Суворов, И. В. Шлык, О. А. Тен [и др.] // Медлайн.Ру. Онкология. – 2015. – Т. 16, 30 нояб. – С. 1282–1301.**
8. **Лечебно-диагностический алгоритм периоперационной коррекции толстокишечных дисбиозов у больных колоректальным раком / О. А. Тен, М. А. Беляев, А. А. Трушин, А. А. Захаренко // Форум «Белые ночи»: тезисы. – СПб., 2018. – С. 9.**
9. **Лечебно-диагностический алгоритм периоперационной коррекции толстокишечных дисбиозов у больных колоректальным раком / О. А. Тен, М. А. Беляев, А. Д. Новикова, А. А. Захаренко // Белые ночи –**

2020: Материалы 6-го Петербург. онколог. форума: сб. тезисов. – СПб., 2020. – С. 20.

10. Патент № RU 2664623 Бюллетень №24 от 21.08.2018г «Способ прогнозирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде».
11. Тен, О. А. Способ оценки риска развития дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде у больных колоректальным раком / О. А. Тен // Национальный хирург. конгр. совместно с XX юбилейным съездом РОЭХ. – М., 2017. URL: https://onkoklinik.ru/img/news/240417/Тен%20О.А._3813977.pdf (дата обращения: 08.09.2020).
12. Тен, О. А. Способ оценки риска развития дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде у больных колоректальным раком / О. А. Тен // Белые ночи – 2017: Материалы 3-го Петербург. онколог. форума: сб. тез. – СПб., 2017. URL: <https://forum-onco.ru/> (дата обращения: 08.09.2020).
13. *Zakharenko, A.* Perioperative changes in lower gut microbiocenosis in patients with colon and rectum cancer / A. Zakharenko, P. Halmurat, A. Suvorov, O. Ten [et al] // Journal of Xinjiang Medical University. – 2017. – Vol. 40, № 2. – P. 250–259.