

На правах рукописи

АНТИПОВ
Сергей Анатольевич

**НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО
И КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ
РАКА ЖЕЛУДКА**
(экспериментально-клиническое
исследование)

14.01.17 – хирургия
14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Иркутск – 2010

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» и в «Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ онкологии СО РАМН» (г. Томск).

Научные консультанты:

доктор медицинских наук,
профессор, член-корреспондент РАМН *Дамбаев Георгий Цыренович*

доктор медицинских наук,
профессор *Тихонов Виктор Иванович*

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук *Корнилов Николай Геннадьевич*

доктор медицинских наук,
профессор *Дыхно Юрий Александрович*

доктор медицинских наук,
профессор *Лалетин Владимир Григорьевич*

Ведущая организация:

*ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет
им. Н.И. Пирогова Федерального агентства по здравоохранению
и социальному развитию (Москва)*

Защита состоится 26 ноября 2010 года в 13 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.032.01 при ГОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2010 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук



Желтовский Ю.В.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Несмотря на тенденцию последних лет к снижению заболеваемости раком желудка, данная патология занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и смертности. Результаты лечения рака желудка остаются неудовлетворительными (Зырянов Б.Н., 1998; Чиссов В.И., 2006; Давыдов М.И., 2008). Расширение объема операции при раке желудка не приводит к улучшению показателей выживаемости. Поэтому в настоящее время все большее значение приобретает «функциональная» хирургия, предотвращающая развитие постгастрорезекционных болезней и улучшающая качество жизни данной группы пациентов (Лысов А.И., 2004; Черноусов Ф.А., 2008; Helyer L.K., 2007). Одними из направлений современной хирургической гастроэнтерологии являются применение пилоросохраняющих операций и разработка пластических вмешательств по созданию искусственных жомно-клапанных устройств.

В последнее время разрабатывается технология лучевой терапии в виде интраоперационного облучения опухоли или ложа удаленной опухоли. Сформулированы показания и противопоказания для проведения интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ) при раке желудка, обозначено поле и выбрана оптимальная доза лучевого воздействия, что улучшает результаты лечения по сравнению с хирургическим методом (Бердов Б.А., 2004; Афанасьев С.Г., 2005).

Использование радиомодификаторов позволяет повысить эффективность лучевого воздействия на опухолевую ткань без повышения дозы облучения. Клиническое применение данной методики, ранний послеоперационный период и осложнения, летальность и отдаленные результаты лечения, а также пути доставки модифицирующего агента требуют дальнейшего тщательного изучения.

Все попытки улучшения отдаленных результатов лечения больных с распространенным раком желудка с применением системной химиотерапии не принесли ожидаемого успеха (Гарин А.М., 2005). Увеличение дозы цитостатика ведет к повышению эффективности лечения, однако системная химиотерапия с применением высоких доз цитостатиков неизбежно связана с непереносимыми системными побочными эффектами (Чиссов В.И., Вашакмадзе Л.А., Бутенко А. В., 2005).

Создание активных полимерных лекарственных форм, в которых полимер выступает в качестве носителя лекарственного вещества, – одно из актуальных направлений в онкологии. Преимущества таких композитов – уменьшение токсичности цитостатика, пролонгированность его действия и целенаправленный транспорт к органам-мишеням. В качестве полимерного транспортного средства цисплатина может быть использована метилцеллюлоза, которая вводится интраперитонеально после выполнения хирургического этапа лечения (Неред С.Н., Клименков А.А., 2007).

Одним из направлений адресной доставки цитостатика являются магнитоуправляемые наноразмерные липидные комплексы. Литературные данные демонстрируют опыт использования магнетита в сочетании с доксорубицином и адриамицином при лечении злокачественных опухолей мягких тканей. При воздействии внешнего магнитного поля либо при имплантации магнита непосредственно в опухоль происходит повышение концентрации цитостатика в опухолевом очаге в 4 раза по сравнению с традиционными методами введения препарата (Толчева Е.Е., Оборотова Н.А., 2006; Randal J., 2001; Retel V.P. et al., 2008).

Эффективность предлагаемого биотехнологического подхода использования низких доз цисплатина и наноферромагнетика в сочетании с липидными компонентами подтверждены экспериментальными исследованиями. Перспективы клинического применения данной методики в рамках комбинированного лечения больных со злокачественной опухолью желудочно-кишечного тракта достаточно высоки. Магнитоуправляемый липидный композит может использоваться как транспортное средство для адресной доставки и удерживания цисплатина в ложе удаленной опухоли либо в местах наиболее частого метастазирования при местнораспространенной форме рака желудка. Все вышеизложенное определило цель и задачи данного диссертационного исследования.

Цель исследования:

Обосновать эффективность, экспериментально разработать и оценить клиническую значимость новых технологий хирургического и комбинированного лечения рака желудка, улучшающих ближайшие и отдаленные результаты лечения.

Задачи исследования:

1. Разработать в эксперименте новый метод формирования пищеводно-желудочного и пищеводно-кишечного анастомозов после проксимальной резекции желудка и гастрэктомии и оценить его морфо-функциональное состояние.

2. Обосновать в эксперименте и разработать в клинике метод комбинированного лечения рака желудка с использованием внутриартериального введения цисплатина в качестве радиосенсибилизатора при интраоперационной лучевой терапии.

3. Обосновать в эксперименте и разработать в клинике метод интраперитонеального введения цисплатина, иммобилизованного на метилцеллюлозе во время хирургического лечения рака желудка.

4. Разработать экспериментальную методику синтеза магниточувствительных ультрамелкодисперсных липидных композитов цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке, обладающих регулируемой подвижностью

и способностью накапливаться в заданном месте при воздействии внешнего магнитного поля.

5. Патогенетически обосновать в экспериментах *in vitro* и *in vivo* на модели аденокарциномы Эрлиха возможность использования магнитоуправляемых лекарственных композитов при лечении опухолевой патологии и выявить механизмы их противоопухолевого эффекта.

6. Провести оценку клинической эффективности разработанного в эксперименте метода формирования пищеводно-желудочного и пищеводно-кишечного анастомозов после проксимальной резекции и гастрэктомии.

7. Оценить клиническую эффективность комбинированного лечения местнораспространённой формы рака желудка с использованием внутриартериального введения цисплатина в качестве радиосенсибилизатора при интраоперационной лучевой терапии в дозе 10 Гр.

8. Провести клиническую оценку результатов комбинированного лечения местнораспространенной формы рака желудка с использованием интраперитонеальной химиотерапии цисплатином.

Научная новизна

Теоретически обоснована, экспериментально доказана и подтверждена результатами клинических исследований эффективность нового метода формирования арефлюксного свисающего клапанного эзофаго-гастроанастомоза (эзофаго-энтероанастомоза) при лечении рака желудка, улучшающего непосредственные и отдаленные результаты и качество жизни у больных в послеоперационном периоде. Новизна и оригинальность этого исследования и разработки нового метода формирования анастомоза подтверждены патентом Российской Федерации (патент РФ на изобретение № 2346661 от 20.02.2009 г. «Способ формирования арефлюксного эзофаго-гастроанастомоза при лечении рака желудка»).

Впервые разработан способ комбинированного лечения рака желудка III стадии с применением интраоперационной лучевой терапии на фоне внутриартериального введения малых доз цисплатина с целью радиосенсибилизации. Проведена оценка эффективности использования радиосенсибилизатора при интраоперационной лучевой терапии местнораспространенного рака желудка. Новизна и оригинальность этого исследования и разработки нового метода комбинированного лечения подтверждены патентом Российской Федерации (патент РФ на изобретение № 2127591 от 20.03.99 г. «Способ комбинированного лечения рака желудка III стадии»).

Теоретически обоснован, экспериментально доказан и подтвержден клиническими исследованиями новый метод комбинированного лечения местнораспространенной формы рака желудка, включающий в себя хирургический метод и интраперитонеальную химиотерапию цисплатином, иммобилизированным на метилцеллюлозе, уменьшающий количество послеоперационных осложнений и

повышающий двухлетнюю выживаемость у больных местнораспространенной формой рака желудка по сравнению с комбинированным методом лечения, включающий системную химиотерапию. Новизна и оригинальность этого исследования и разработки нового метода интраперитонеальной химиотерапии подтверждены патентом Российской Федерации (патент РФ на изобретение № 2370222 от 20.10.2009 г. «Способ лечения диссеминированного и местнораспространенного рака желудка IV стадии»).

Впервые синтезирован магнитоуправляемый, ультрамелкодисперсный липидный композит цисплатина и нанопорошка железа в пироуглеродной оболочке. Новизна и оригинальность данной разработки подтверждены патентом Российской Федерации (патент РФ на изобретение № 2357724 от 10.06.2009 г. «Способ получения магниточувствительных липосом»). Экспериментально обоснованы механизмы противоопухолевой эффективности липидного композита на модели аденокарциномы Эрлиха.

Практическая значимость

Разработана и внедрена в клиническую практику новая методика формирования арелфлюксного свисающего пищеводно-желудочного и пищеводно-кишечного анастомозов. Использование данной методики снижает количество осложнений в раннем послеоперационном периоде в 1,8 раза, послеоперационную летальность в 1,2 раза и количество осложнений в отдаленном послеоперационном периоде в 2,1 раза, а также значительно улучшает качество жизни больных в сравнении с аналогичными параметрами у пациентов со стандартной методикой хирургического лечения.

Разработана новая методика комбинированного лечения рака желудка III стадии с применением интраоперационной лучевой терапии на фоне внутриартериального введения малых доз цисплатина с целью радиосенсибилизации. Использование радиосенсибилизатора при интраоперационной лучевой терапии у больных раком желудка улучшает отдаленные результаты комбинированного лечения без повышения разовой дозы облучения, при этом не усложняет проведение хирургического этапа лечения и не увеличивает частоту послеоперационных осложнений и летальности. Данная схема комбинированной терапии может быть рекомендована для внедрения в клиническую практику онкологических учреждений.

Разработаны, сформулированы и внедрены в клиническую практику показания к применению новой методики интраперитонеальной химиотерапии при лечении больных с местнораспространенным раком желудка, которая снижает количество послеоперационных осложнений в раннем послеоперационном периоде в 1,3 раза и увеличивает двухлетнюю выживаемость и безрецидивный период по сравнению с больными местнораспространенным раком, получившими комбинированное лечение с использованием системной химиотерапии.

Патогенетически обоснована биотехнологическая модель комбинированного лечения местнораспространенной формы рака с использованием липидного композита, включающего низкие дозы цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке. Полученные экспериментальные данные убедительно свидетельствуют о высокой противоопухолевой активности синтезированного липидного композита в сочетании с пониженной токсичностью (в сравнении с его отдельными компонентами). Определены перспективы клинического использования этой методики в рамках комбинированного лечения больных со злокачественной опухолью желудка. Магнитоуправляемый липидный композит сможет применяться как транспортное средство для адресной доставки и удерживания цисплатина в ложе удаленной опухоли либо в местах наиболее частого регионарного метастазирования при воздействии внешнего магнитного поля, при интраперитонеальном введении во время хирургического лечения местнораспространенной формы рака желудка.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Методика формирования арефлюксного свисающего клапанного пищеводно-кишечного и пищеводно-желудочного анастомозов после гастрэктомии и проксимальной резекции желудка снижает частоту пострезекционных осложнений при радикальных оперативных вмешательствах на желудке и улучшает качество жизни данной категории больных.

2. Интраоперационная лучевая терапия на фоне внутриартериального введения цисплатина улучшает результаты лечения, не увеличивая количество послеоперационных осложнений и летальности у больных с местнораспространенной формой рака желудка.

3. Интраперитонеальный метод введения цисплатина в системе метилцеллюлозы при комбинированном лечении рака желудка увеличивает время возникновения местных рецидивов и отдаленных метастазов.

4. Синтезированный магниточувствительный, ультрамелкодисперсный липидный композит, включающий низкие дозы цисплатина и нанопорошок железа в углеродной оболочке, имеет высокую противоопухолевую активность и низкую токсичность на клеточном и тканевом уровнях.

5. Механизм противоопухолевого эффекта магниточувствительного ультрамелкодисперсного липидного композита цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке обусловлен прямым цитотоксическим действием на опухолевые клетки и усилением реактивности соединительной ткани.

Реализация результатов исследования

По результатам исследования получено 4 патента Российской Федерации на изобретение. Разработанные технологии формирования арефлюксного свисающего клапанного пищеводнокишечного и пищеводножелудочного анастомозов после гастрэктомии и проксимальной резекции желудка и комбинированного

лечения с применением интраперитонеальной химиотерапии внедрены в лечебную практику клиники госпитальной хирургии им. А.Г. Савиных ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава. Разработанная технология внутриартериального введения цисплатина на фоне проведения интраоперационной лучевой терапии при комбинированном лечении рака желудка внедрена в лечебную практику торакоабдоминального отделения клиник НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН. Результаты работы используются в педагогической, научной и практической деятельности сотрудников НИИ гастроэнтерологии им. Г.К. Жерлова, кафедр госпитальной хирургии, морфологии и общей патологии ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (г. Томск), кафедры онкологии Красноярской государственной академии, в институте химии нефти СО РАН (г. Томск) и институте физики металлов УрО (г. Екатеринбург).

Апробация результатов

Основные положения диссертационной работы представлены на I Казахско-Японском симпозиуме по использованию радиомодификаторов при лечении рака (г. Алма-Ата, 15–17 сентября 1996 г.); областном обществе онкологов (г. Томск, 4 апреля 1997 г.); отчетной сессии НИИ Онкологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск, 12 ноября 1997 г.); Международном конгрессе по аналитической химии (г. Москва, 3 декабря 1997 г.); конкурсе молодых ученых НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск, 1998, 1999 гг.); I Международном конгрессе по интраоперационной лучевой терапии (г. Памплона, Испания, 3–6 августа 1998 г.); апробационном совете НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН 12.05.2000 г.; Всероссийской конференции с международным участием «Полифункциональные наноматериалы и нанотехнологии», посвященной 130-летию ТГУ (Томск, 19–22 сентября 2008 г.); Международном конгрессе «Nanotech Northern Europe 2008» (Копенгаген (Дания), 23–25 сентября 2008 г.); 6-м Международном семинаре «Drug Delivery System for Nanomedicine» (Либлиц (Чехия), 3–6 октября 2008 г.); международной конференции (Монголия, 21–23 октября 2008 г.); Международной конференции по производству и использованию наноматериалов «NANOSAFE-2008» (Гренобль (Франция), 3–7 ноября 2008 г.); VIII Всероссийской конференции «Физикохимия ультрадисперсных (нано-) систем» (ФХУДС-VIII) (Белгород, 10–14 ноября 2008 г.); Международном форуме по нанотехнологиям «Rusnanotech-2008» (Москва, 3–5 декабря 2008 г.); Всероссийской научной конференции с международным участием «Наноонкология» (Москва, 18–19 февраля 2009 г.); III Всероссийской конференции по наноматериалам «НАНО-2009» (Екатеринбург, 20–24 апреля 2009 г.); Всероссийской конференции «Химическая биология – фундаментальные проблемы бионанотехнологий» (Новосибирск, 10–14 июня 2009 г.) и на областном обществе хирургов (Томск, 17 декабря 2009 г.).

В рамках диссертационного исследования – руководство дипломной работой студентки VI курса медико-биологического факультета ГОУ ВПО

Сибирский государственный медицинский университет Росздрава «Влияние фосфолипидных магниточувствительных липосом, инкапсулированных цисплатином, на жизнеспособность клеток карциномы Эрлиха и суспензий спленоцитов мыши» по специальности «биохимия» (Томск, июнь 2008 г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 40 печатных работ, в том числе 8 статей в журналах, рецензируемых ВАК РФ, 7 тезисов в международной печати, 1 учебно-методическое пособие (рекомендовано УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России), 4 патента на изобретение РФ, 1 патент на полезную модель РФ.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 295 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 33 таблицами, 117 рисунками и 3 выписками из историй болезни. Библиографический указатель включает 487 источников, из которых 240 отечественных и 247 зарубежных.

Личный вклад автора

Принимал непосредственное участие в разработке и проведении экспериментальных и клинических исследований. Весь материал диссертации собран, обработан и интерпретирован лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная часть работы выполнена в Центральной научно-исследовательской лаборатории (директор – доктор медицинских наук, профессор А.Н. Байков) и на базе кафедры морфологии и общей патологии (заведующая кафедрой – доктор медицинских наук, профессор И.А. Суходоло) ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, в отделе экспериментальной цитологии НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при Сибирском физико-техническом институте при Томском государственном университете (директор – доктор физико-технических наук, профессор В.Э. Гюнтер), в лабораториях каталитических превращений легких углеводородов нефти Института химии нефти СО РАН (заведующий лабораторией – доктор химических наук А.В. Восмерилов) и прикладного магнетизма НИИ физики металлов УО РАН (заведующий лабораторией – доктор физико-математических наук, профессор, лауреат Государственной премии А.Е. Ермаков).

Оценку анатомо-физиологических характеристик разработанного арефлюксного свисающего клапанного эзофаго-гастроанастомоза/эзофаго-энтероанастомоза провели на 25 взрослых беспородных собаках обоего пола,

содержащихся до и в процессе эксперимента в обычных условиях вивария. Всем животным выполняли лапаротомию, с последующим выполнением гастрэктомии или проксимальной резекции желудка. В ходе эксперимента проводили клиническое наблюдение, лучевой мониторинг и эндоскопический контроль. Срок наблюдения в эксперименте – до 2 лет. Рентгенографию осуществляли с помощью аппарата фирмы VEB Transformatoren und Rontgenwerk «Hermann Matern» (TUR) типа D800-3. Выполняли фиброзофагогастроскопию аппаратом XX («Olympus», Япония). Эндоскопическому исследованию было подвергнуто 5 животных: через 1 месяц – 1 собака, через 3 месяца – 1 собака, через 6 месяцев – 1 собака, через 1 год – 2 собаки. Механическую прочность, физическую герметичность и арефлюксные свойства, а также макро- и микроскопические особенности заживления анастомозов изучили на 15 животных в сроки 1, 7, 14, 21 и 30 суток, 3 и 6 месяцев, 1 и 2 года. Окрашивание срезов производили гематоксилином и эозином, а также железным гематоксилином Вейгерта и пикрофуксином по методу Ван-Гизона.

Оценка радиосенсибилизирующего эффекта и определение концентрации цисплатина в зоне облучения при внутриартериальном введении. Исследование по определению радиосенсибилизирующего эффекта проводилось на трансплантируемой опухоли мышей (карцинома Эрлиха). Опухоль поддерживалась на мышах BALB/CaLac в асцитном варианте. В исследовании использовали 60 животных, распределенных на 6 групп, по 10 в каждой группе. При перевивке опухоли для опыта брали 10-дневный асцит, из которого готовили клеточную суспензию и вводили под кожу бедра животным. Через 11–12 суток, по достижению опухолями объема 0,5 см³, проводили опыт. В качестве препарата сравнения использовали метронидазол, который вводился внутрибрюшинно за 40 мин. до облучения в дозе 0,5 мг/г массы тела животного. Цисплатин вводили внутривенно за 30 мин. до облучения в дозе 1,5 мг/кг массы тела животного. Облучение животных осуществлялось стандартным рентгеновским излучением на аппарате РУМ-17 в дозе 10 Гр. Тело мышей экранировалось свинцовой камерой. Объем опухоли определяли по формуле:

$$U = \alpha \times \beta \times \gamma \times \pi / 6,$$

где α , β , γ – размер трех взаимно перпендикулярных диаметров опухоли; π – постоянная 3,14157.

Реализация радиосенсибилизирующего эффекта цисплатина зависит от концентрации препарата в опухолевой ткани в момент облучения. Было проведено исследование по определению концентрации цисплатина в крови, здоровой и опухолевой тканях у больного. Для определения препарата в биологических тканях использовался метод инверсионной вольтамперометрии. По данным вольтамперограммы на графике реализуется количественное содержание платины в растворе.

Методика определения концентрации платины в биологических объектах при внутрибрюшинном введении на фоне Линтекс-Мезогеля: Использовали 20 белых беспородных крыс-самцов массой 260–280 г, которых содержали в стандартных условиях вивария. В первой (контрольной) группе животных в брюшную полость вводили 5 мл цисплатина 0,5%; во второй (опытной) группе применяли раствор – 5 мл цисплатина 0,5% и 5 мл мезогеля. Для исследования кинетики поступления препарата в кровь через 30 минут, 1, 2 и 24 часа из хвостовой вены брали по 0,3 мл крови. После выведения животных из опыта через 24 часа производили забор печени для определения содержания платины. Определение платины в биологических объектах проводили методом инверсионной вольтамперометрии. Для определения активности цисплатина при взаимодействии с гелем Линтекс-Мезогель были выполнены физико-химические исследования, целью которых являлось изучение электронных спектров поглощения взаимодействия Линтекс-Мезогеля с цисплатином и сывороткой крови.

Исследование структурно-функциональной организации костного мозга при его взаимодействии *in vitro* с нанопорошком железа или его оксидом. Количественный состав гемопоэтических островков (ГО) изучали по методике Crocker и Gordon (1985) в модификации В.В. Новицкого и соавт. (2004). Костный мозг мышей линии Balb/c из канала бедренной кости вымывали в пробирки с 1 мл среды RPMI-1640. В часть пробирок добавляли нанодисперсию частиц магнетита Fe_3O_4 или железа в углеродной оболочке $Fe(C)$ в конечной концентрации 3 мг/л, которую получали непосредственно перед смешиванием с клетками при помощи ультразвуковой обработки в течение 5 минут. Негативным контролем токсичности служила взвесь миелокариоцитов, в которую добавляли 0,9% NaCl в 1/10 (100 мкл) полного объема культуральной среды. В качестве позитивного контроля токсичности была выбрана перекись водорода в конечном разбавлении 1 мМ, обладающем цитотоксическим эффектом (Меньщикова Е.Б. и соавт., 2006). Перемешивали компоненты путем пипетирования клеточной взвеси через иглу диаметром 1 мм и культивировали в термостате в течение 1 часа при 37 °С. Далее снова пипетировали клеточную взвесь, смешивали в пропорции 1 : 1 с 0,1%-ным раствором нейтрального красного в 0,9%-ном растворе NaCl. Полученную смесь заносили в камеру Горяева и по всей ее рабочей поверхности подсчитывали число ГО с окрашенными или неокрашенными центральными элементами до и после их культивирования в термостате. За ГО принимали клеточные ассоциации, содержащие не менее 3 миелокариоцитов, связанных с центрально расположенным моноцитом/макрофагом или стромальным механоцитом. Общее количество кариоцитов (ОКК) и число погибших клеток, окрашивающихся 0,4%-ным трипановым синим, оценивали в камере Горяева до и после добавления нанодисперсии согласно методике В.В. Новицкого соавт. (2004).

Подготовка магнитоуправляемых липосомальных композитов цисплатина. Липидные композиты, содержащие инкапсулированный цисплатин и ферромагнитный нанопорошок, были синтезированы в Институте химии нефти СО РАН (г. Томск) на основе фосфолипидных компонентов растительного и животного сырья. Характеристики магниточувствительных липидных композитов: размер – 500–1000 нм, концентрация цисплатина – 0,005 мг/мл, подвижность в магнитном поле – 0,18 кАм²/кг. Концентрация нанопорошка железа в липидной эмульсии, определенная из кривых намагничивания – 0,2%. Степень включения цисплатина в липидный композит рассчитывали по разнице между исходной концентрацией цитостатика (0,05 % в изотоническом растворе) и не включившегося в систему. Концентрацию свободного цитостатика в фосфатном буфере (после осаждения липидного композита центрифугированием) определяли спектрофотометрическим методом. Нанодисперсии Fe(C) с раствором цитостатика (Цисплатин-ЛЭНС) готовили в фосфатном буфере в присутствии фосфолипидного концентрата из хроматографически очищенного соевого лецитина [NSP, Китай], содержащего 98 % фосфатидилхолина, с помощью ультразвукового воздействия (ультразвуковой дезинтегратор UD-20, мощность – 1–8 Вт/см², частота – 12 кГц) в среде фосфатного буфера.

***In vitro* оценка токсического эффекта цисплатина в составе магнитоуправляемого липосомального композита на клетки аденокарциномы Эрлиха.** В качестве клеток-мишеней применяли краткосрочную культуру клеток перевиваемой карциномы Эрлиха, которая поддерживалась в асцитной форме на мышах линии С57В1/6. Для исследований использовали популяции клеток, исходная жизнеспособность которых составляла не менее 90 %. Свежевыделенные опухолевые клетки или спленоциты мышей (5×10^5 клеток на лунку) инкубировали в 96-луночных планшетах (по 8 лунок на каждую группу) совместно с нанокompозитами в течение 24 часов при 37 °С и 100%-ной влажности с 5 % CO₂ в культуральной среде следующего состава: 95 % среды RPMI-1640, 5 % эмбриональной телячьей сыворотки, 280 мг/л L-глутамин. Для определения числа жизнеспособных клеток использовали краситель (0,4%-ный раствор трипанового синего) и технику проведения анализа согласно международному стандарту ISO 10993-5.

***In vivo* оценка токсического эффекта цисплатина в составе магнитоуправляемого липосомального композита на клетки аденокарциномы Эрлиха.** Исследования проведены на 40 беспородных мышах обоего пола массой тела 18–22 г. Аденокарцинома Эрлиха пассировалась в асцитной форме. Разовая доза перевивки в солидную форму (подкожно, нижняя конечность) составляла 5×10^6 клеток в 0,2 мл фосфатного буфера. Липидные композиты и контрольные растворы вводили местно в течение 10 дней, начиная через 24 часа после перевивки опухоли. На 28-е сутки после перевивки опухоли животных умерщвляли, оценивали массу мышей, массу и размер опухоли, из-

влекали внутренние органы. Интегральную эффективность лечения определяли по относительной массе опухоли (ОМО – отношение массы опухоли к массе животного, %), торможению роста опухоли (ТРО, %) и количественной морфометрической оценке тонких срезов (Автандилов Г.Г., 2002) опухолевой ткани и внутренних органов животных, окрашенных гематоксилином-эозином. Выбор концентрации цисплатина был осуществлен на основе оценки зависимости выживаемости клеток карциномы Эрлиха от концентрации цисплатина в среде.

Клинические исследования

Клиническая часть работы выполнена на основании анализа клинических наблюдений эффективности хирургического и комбинированного методов лечения 216 больных с диагнозом рак желудка. Для определения клинической эффективности нового метода формирования анастомоза после проксимальной резекции и гастрэктомии в исследование включено 76 пациентов с диагнозом рак желудка I–II стадии, с распространением опухоли T1–T3, с регионарным метастазированием N0–N2 и отсутствием отдаленного метастазирования M0

Для определения эффективности комбинированных методов лечения в исследование включено 140 пациентов с диагнозом рак желудка III стадии, с местным распространением опухоли T3–T4, с регионарным метастазированием N0–N2 и отсутствием отдаленного метастазирования M0

Критерии включения пациентов в исследование: возраст от 35 до 80 лет; верифицированный диагноз рака желудка I–II стадии для группы больных, получивших хирургическое лечение и III стадии для группы больных получивших комбинированное лечение.

Критерии исключения пациентов из исследования: несоответствие критериям включения; клинически значимые сопутствующие заболевания опорно-двигательного аппарата, нервной и сердечно-сосудистой систем, которые могли бы повлиять на оценку клинических и лабораторных параметров основной патологии; онкологические заболевания другой локализации; гематологические заболевания; декомпенсированный сахарный диабет; психические нарушения; асоциальный статус больных; беременность.

В соответствии с задачами исследования больные были разделены на следующие равнозначные и сопоставимые по основным прогностическим признакам группы:

(I–II стадия; T(1-3) N(0-2) M(0))

I – пациенты с радикальной операцией с формированием арелфлюксного свисающего клапанного пищеводно-желудочного/пищеводно-кишечного анастомоза (основная группа, $n = 35$);

II – пациенты с радикальной операцией с формированием общепризнанного трехрядного погружного пищеводно-желудочного / пищеводно-кишечного анастомоза по А.Г. Савиных(группа контроля, $n = 41$);

(III стадия; T(3-4) N(0-2) M(0))

III – пациенты с радикальной операцией в сочетании с интраоперационным облучением в дозе 10 Гр на зону левой желудочной артерии и ложе удаленной опухоли при внутривартериальном введении цисплатина в качестве радиосенсибилизатора (основная группа, $n = 35$);

IV – пациенты с радикальной операцией в сочетании с интраоперационным облучением в дозе 10 Гр на зону левой желудочной артерии и ложе удаленной опухоли (группа контроля, $n = 35$);

V – пациенты с радикальной операцией с интраоперационным внутривартериальным введением раствора Линтекс-Мезогеля и цисплатина в дозе 50 мг/м² (основная группа, $n = 30$);

VI – пациенты с предоперационной химиотерапией 5ФУ и радикальной операцией (группа контроля, $n = 40$).

Формирование групп больных осуществлялось методом «конвертов» после комплексного обследования, включающего в себя клиническое, рентгенологическое, эндоскопическое и морфологическое исследования.

Новый способ формирования пищеводно-кишечного и пищеводно-желудочного анастомозов. Выполняли верхнесрединную лапаротомию. Проводили ревизию брюшной полости с целью определения отдаленных метастазов, локализации и распространения опухолевого процесса в желудке. Осуществляли мобилизацию левой доли печени по Кохеру, затем – диафрагмо-круротомию по А.Г. Савиных. Пищевод обходили инструментом или пальцем, брали на тесьму или резиновую держалку и вытягивали в брюшную полость. Производили мобилизацию абдоминального отдела пищевода и желудка по малой и большой кривизне. Отступя 10 мм от кардиального жома, циркулярно рассекали адвентициальный и мышечный слои пищевода в абдоминальном отделе до подслизистого слоя и заворачивали кверху на ширину 15–20 мм, охватывая пищевод с фиксацией верхнего края отдельными швами, создавая тем самым мышечный жом. Выше края среза сосуды подслизистого слоя по всей окружности прошивали узловыми кетгутowymi швами. Слизисто-подслизистый слой пищевода отсекали от желудка и брали на 2 держалки. Выполняли проксимальную резекцию желудка (гастрэктомию) (рис. 1).

Формирование задней губы анастомоза начинали с наложения первого ряда швов. Задние полуокружности пищевода и культи желудка (кишки) сшивали 3–4 узловыми швами. Для этого на пищеводе в шов брали мышечную оболочку выше сформированной манжеты на 0,5 см с захватыванием подслизистого слоя; на дне желудка (кишки) накладывали серозно-мышечный шов. После наложения 4–5 швов при натягивании нитей сдвигали дно желудка (кишки), швы поочередно затягивали. Края сформированной задней полуокружности брали на 2 держалки. Отступя от края шва на 1 см, на передней стенке желудка (кишки) рассекали серозно-мышечный слой на ширину пищевода для формирования соустья.

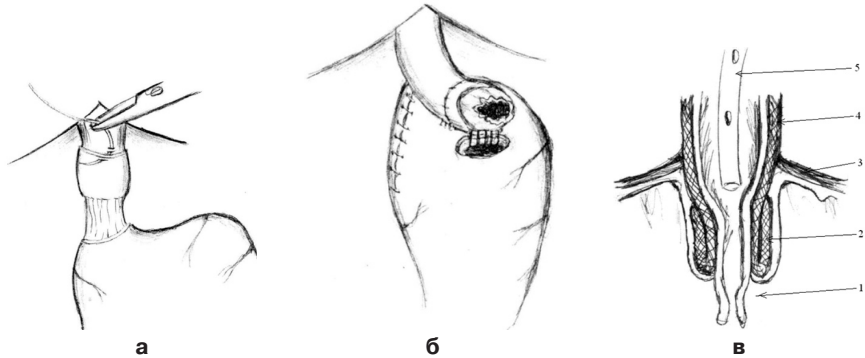


Рис. 1. Схема формирования арефлюксного свисающего клапанного анастомоза: **а)** формирование мышечной «манжеты»; **б)** формирование задней губы анастомоза; **в)** окончательный вид анастомоза; **1** – слизистая пищевода; **2** – мышечный жом; **3** – стенка желудка; **4** – стенка пищевода; **5** – назозофагеальный зонд.

Затем накладывали второй ряд швов. Для этого слизистоподслизистый слой пищевода за держалки отводили вверх. На пищеводе в шов брали мышечную дубликатуру нижней задней части сформированной манжеты, на желудке накладывали серозно-мышечный шов по краю рассеченной стенки в области верхнего угла анастомоза. Лигатуру брали на держалку. Далее накладывали непрерывный шов рассасывающей нитью, формируя заднюю стенку до нижнего угла анастомоза. Лигатуру также брали на держалку.

После этого производили электрокоагуляцию и рассечение слизистоподслизистого слоя в области анастомоза на передней стенке желудка (кишки). Края раны разводили, погружали свободный участок слизистоподслизистого слоя пищевода, предварительно перевязав данный участок рассасывающей нитью, через сформированное отверстие в просвет желудка (кишки). Свисающий в просвет свободный участок слизистоподслизистого слоя пищевода играет роль клапана, препятствующего забросу содержимого желудка (кишки) в пищевод, а фиксация свободной части кетгутovým узлом для профилактики инфицирования содержимым ротовой полости зону анастомоза.

Формировали переднюю губу анастомоза путем продолжения наложения первого ряда пищеводно-желудочного непрерывного шва, начиная от нижнего угла в направлении верхнего.

На пищеводе в шов брали нижний край передней части манжеты, на желудке (кишке) – серозномышечный слой по краю анастомоза.

Держалку срезали. Переднюю полуокружность пищевода и культю желудка (кишки) сшивали 3–4 узловыми швами, формируя второй ряд швов. Для этого на пищеводе в шов брали мышечную оболочку выше сформированной манжеты на 0,5 см, на желудке (кишке) накладывали серозномышечный шов

на передней стенке, отступая от первого ряда швов на 2–3 см. После этого держалки срезали.

Методика внутриартериального введения цисплатина на фоне интраоперационного облучения при комбинированном лечении рака желудка

Катетеризация чревного ствола проводилась за 1–2 дня до оперативного лечения по методике транслюмбальной катетеризации чревной артерии, разработанной Н.А. Макаркиным с соавт. (1990). Внутриартериальную инфузию осуществляли с помощью аппарата, обеспечивающего подачу лекарственных смесей под регулируемым давлением. Излучатель быстрых электронов малогабаритный бетатрон МИБ-6Э для интраоперационного облучения размещен непосредственно в операционной на специальной подвеске, перемещающейся над операционным столом по потолочной двутавровой стальной балке. За 30–40 минут до начала облучения во время проведения хирургического этапа лечения, при помощи дозатора, через ранее установленный катетер, проводят внутриартериальную инфузию цисплатина в дозе 20 мг/м². Выбор поля облучения и его размеры устанавливаются непосредственно во время ревизии брюшной полости в зависимости от локализации и объема поражения, наличия увеличенных лимфоузлов в бассейнах регионарного метастазирования. Разовая доза ИОЛТ – 10 Гр. По продолжительности сеанс занимает 15–18 минут. По завершении сеанса облучения бетатрон отстыковывается и отводится за пределы операционного стола. Коллиматор удаляется из брюшной полости, затем восстанавливается проходимость пищеварительного тракта по общепринятым методикам.

Методика интраперитонеальной химиотерапии цисплатином при комбинированном лечении рака желудка

Предложенное комбинированное лечение осуществляют следующим образом. Производят верхнесрединную лапаротомию, при интраоперационном подтверждении локализации и распространенности опухолевого процесса выполняют хирургический этап лечения. Далее используют методику введения в брюшную полость цисплатина в производной целлюлозы, имеющей гелевую консистенцию – «Линтекс-Мезогель». Формируют транспортную систему: гель противоспаечный рассасывающийся «Линтекс-Мезогель» стерильный применяют во время операции. Данный препарат разрешен для медицинского применения, имеет соответствующее регистрационное удостоверение № ФС 0126006/3224-06 и сертификат соответствия № РОСС RU. ИМ09.ВО 1505. «Линтекс-Мезогель» промышленно выпускается в двойной герметичной полимерной упаковке объемом 200 мл. Для применения геля во время операции наружную упаковку вскрывают, внутренний стерильный пакет извлекают, соблюдая правила асептики. Внутренний пакет вскрывают, шприцом в этот

пакет вводят цисплатин в дозе 50–75 мг/м² и равномерно размешивают. Готовой системой равномерно, тонким слоем обрабатывают брюшину. Брюшную полость ушивают.

Методы оценки результатов хирургического и комбинированного способов лечения

Во всех исследуемых группах различий по возрастному признаку не выявлено.

Для оценки распространенности опухолевого процесса мы руководствовались рекомендациями ВОЗ, используя классификацию по критериям TNM. Распределение пациентов сравниваемых групп по критериям однородное, без достоверных различий. У исследуемых пациентов чаще имел место экзофитный вариант роста опухоли, значительно реже определялся эндофитный тип, и, в небольшом проценте случаев, опухоль носила смешанный характер. По данному критерию сравниваемые группы также были однородными. Для анализа сравниваемых групп по гистотипу мы пользовались рекомендуемой ВОЗ «Гистологической классификацией опухолей желудка и пищевода № 18, 1982 г.» Во всех группах значимых различий по гистологическому признаку не отмечено.

При оценке непосредственных результатов хирургического и комбинированного лечения рака желудка проводили анализ особенностей послеоперационного периода, частоты и характера послеоперационных осложнений, летальности больных.

Функциональное состояние пищеводно-кишечного и пищеводно-желудочного анастомозов изучали в ранние (12–18 сутки), поздние (3–7 месяцев) и отдаленные (1–8 лет) сроки после операции. Наряду с клиническими критериями функции анастомоза (дисфагия, изжога, рвота желчью, гиперсаливация, сохранение аппетита, непереносимость отдельных продуктов) применяли рентгенологические, эндоскопические методы исследования.

Особое внимание уделяли оценке качества жизни пациентов в соответствии со шкалой качества жизни онкологических больных, с использованием опросника EORTC QLQ-C30 version 3.0 и модуля STO-22 для больных раком желудка. Все больные заполняли анкету опросника до начала лечения, затем через 3, 5, и 10 месяцев после операции. С анкетой пациенты работали самостоятельно, в случае необходимости – с помощью лечащих врачей. Расчет всех параметров качества жизни производили в соответствии с рекомендациями EORTC.

Сравнительную оценку эффективности комбинированных методов лечения проводили с учетом данных анализа срока и частоты появления рецидивов и метастазов в ближайшие 2 года после операции. Для изучения отдаленных результатов произведен расчет скорректированной трех- и пятилетней выживаемости.

При оценке полученных данных были использованы стандартные пакеты программ Statistica (версия 6.0) и SPSS Statistics (версия 17.0). **Оценку раз-**

личий между выборками проводили с использованием t-критерия Стьюдента (при нормальном распределении переменных), U-критерия Манна-Уитни и T-критерия Вилкоксона (в случае отсутствия согласия данных с нормальным распределением). Для каждой выборки вычисляли средневыборочные характеристики: среднее арифметическое (\bar{X}), среднее квадратичное отклонение (δ), ошибка среднего (m) или медиана (Me), 25 % ($Q1$) и 75 % ($Q3$) квартили. С целью выявления связи между исследуемыми показателями проводили линейный регрессионный анализ, а также определение коэффициентов ранговой корреляции Спирмена (r). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Для оценки качественных различий в сформированных группах использовали метод Фишера для четырехпольной таблицы. Для оценки функции выживания использовали метод Каплана и Мейера (1958), для оценки различий в выживаемости выборок использовали обобщенный критерий Вилкоксона (по Гехану).

Обоснование и разработка новых технологий лечения местнораспространенного рака желудка в эксперименте

Результаты макро- и микроскопического исследований пищеводно-кишечного и пищеводно-желудочного анастомозов, сформированных по предлагаемой методике. С целью морфологического изучения процессов заживления арефлюксного свисающего клапанного пищеводно-кишечного / пищеводно-желудочного анастомоза после гастрэктомии и проксимальной резекции желудка был выполнен эксперимент на 25 беспородных собаках. Всего было проведено 12 гастрэктомий и 13 проксимальных резекций желудка.

Выполняли лапаротомию для оценки макроскопических изменений в брюшной полости в разные сроки после операции, затем производили извлечение органокомплекса для проведения макро-, микроскопических и функциональных исследований в области анастомоза. При вскрытии всех животных в зоне оперативного вмешательства отмечался умеренный спаечный процесс, четко визуализировалась «манжетка». Зона демаскулированного участка слизистоподслизистого слоя, играющая роль клапана, погружена в просвет кишки (желудка), без рубцовых изменений.

Через трое суток после операции со стороны серозной оболочки в области анастомоза имеется незначительный отек. В области соустья серозная оболочка тусклая. Со стороны слизистой клапан, выступающий в просвет желудка, утолщен за счет отека слизистой оболочки, пальпаторно эластичен, явлений некроза нет.

При микроскопическом исследовании на 3-и сутки зона соустья умеренно инфильтрирована сегментоядерными лейкоцитами, по линии сшивания органов видны участки некроза небольшого размера. Между соприкасающимися поверхностями слизистых оболочек имеются наложения из рыхлого фибрина,

проникающего на отдельных участках в толщу подслизистого слоя пищевода и желудка. Слизистая, подслизистая основа пищевода, погруженная в просвет желудка, характеризуется одинаковым утолщением в различных отделах. Сформированный пищеводный мышечный «жом» представлен удовлетворительно выявляющимися гладкими миоцитами, идущими в неодинаковом направлении.

На 7-е сутки отмечено заметное уменьшение отека тканей вблизи анастомоза. Микроскопически в указанные сроки после операции в области соустья сохраняется экссудация сегментоядерными лейкоцитами. По краю сшитых слизистых оболочек отмечено уменьшение воспалительной инфильтрации. Молодая грануляционная ткань заполняет дефекты между слизистыми. В основании мышечного «жома» сосуды расширены, заполнены форменными элементами, между продольными и циркулярными слоями – очаги кровоизлияния. Большинство миоцитов продольного и циркулярного слоев имеют обычный вид, участками между ними определяются скопления фибробластов и сегментоядерных клеток.

Через 14 суток после операции отек в области анастомоза полностью разрешился. Снаружи анастомоза восстанавливается серозная оболочка. Анастомоз эластичен. Отека клапана нет, его высота – 18–20 мм, просвет анастомоза со стороны культи желудка сомкнут. Линия соединения слизистых оболочек прослеживается с трудом. При микроскопическом исследовании в области пищеводно-желудочного соустья утолщен серозный покров, рубец представлен нежными прослойками коллагеновых волокон. В мышечном слое на месте некротических тканей определяется нежная полоска соединительной ткани, практически без воспалительной инфильтрации. Подслизистый слой умеренно отечен, с диффузной лейкоцитарной инфильтрацией

К 30-м суткам после операции проксимальной резекции желудка отека и инфильтрации зоны анастомоза нет, сероза гладкая, чистая, линия швов не видна. При вскрытии просвета желудка обнаружено, что анастомоз эластичен, широкий, без признаков рубцового сужения. Клапан – высотой 16–18 мм, свисает в просвет культи желудка. Вершиной клапана является слизистая оболочка пищевода, линия соединения слизистых пищевода и желудка располагается проксимальнее на 3–4 мм от вершины клапана. Слизистая оболочка пищевода складчатая, гладкая, блестящая без признаков воспаления. В указанные сроки при гистологическом исследовании отмечается полная эпителизация по краю соустья. Мышечные слои «жома» представлены отчетливо выявляющимися элементами гладкой мускулатуры пищевода, цитоплазма мышечных клеток окрашивается эозином равномерно, кровеносные сосуды не расширены. Между подслизистыми слоями пищевода и дна желудка в области «клапана» определяется узкая полоска зрелой соединительной ткани.

Таким образом, через 1 месяц после операции проксимальной резекции желудка макро- и микроскопические исследования свидетельствовали о полном

заживлении пищеводно-желудочного анастомоза и завершении органоспецифической дифференцировки его тканей с восстановлением в области их соединения типичного строения слизистой оболочки пищевода и желудка.

Через 1 год после операции пищевод не расширен, клапан – высотой 18 мм, слизистая его не отличается от аналогичной оболочки пищевода. Просвет клапана сомкнут. На разрезе просвет пищевода свободен от слизи. Слизистая оболочка пищевода блестящая, с продольными складками. Линия стыка слизистых оболочек располагается на 3–5 мм выше вершины клапана и как бы прикрывает слизистую оболочку пищевода от воздействия желудочного содержимого. При микроскопическом исследовании в участке искусственного «жома» выявляются 2 четко выраженных пласта мышечной ткани, в которых гладкие миоциты идут в различных направлениях и, соответственно, принадлежат циркулярному и продольному слоям.

Через 2 года после операции микроскопическая картина стенки пищевода не отличается от таковой при сроке наблюдения в 1 год.

Проведенные макро- и микроскопические исследования показали, что использование в эксперименте методики послыстного рассечения и сшивания одноименных тканей с наложением подслизисто-слизистого шва обеспечивает неосложненное заживление соустья. Формируемый клапан сохраняет свою форму и структуру в контрольные сроки наблюдения, предупреждает регургитацию и развитие рефлюкс-эзофагита в отдаленном послеоперационном периоде.

Изучение арефлюксной функции свисающего клапанного анастомоза.

Для объективной оценки арефлюксных свойств пищеводно-желудочного соустья в сроки от 1 месяца до 1 года после операции проводили эндоскопическое исследование. При эндоскопическом исследовании в установленные сроки данных за стеноз и рефлюкс-эзофагит не было выявлено ни в одном случае. Пищеводно-желудочное соустье во всех случаях было сомкнуто, при введении воздуха оно раскрывалось до 11–14 мм, приобретая округлую или овальную форму.

В послеоперационном периоде 5 собакам были выполнены рентгенологические исследования. Выполняли обзорные и прицельные рентгенограммы желудка и зоны соустья. Поступление контраста в пищевод не наблюдалось. После этого собаку переводили в положение Тренделенбурга. Вся бариевая взвесь находилась в желудке, гастроэзофагеальный рефлюкс отсутствовал.

С целью объективной оценки арефлюксной функции свисающего клапанного анастомоза нами использован метод пневмопрессии извлеченного пищеводно-желудочного (пищеводно-кишечного) комплекса. Запирательный механизм пищеводно-желудочного (пищеводно-кишечного) анастомоза, представленный свисающим клапаном, выдерживал нагнетание воздуха в желудок (кишечник) до 30 мм рт. ст. При этом в сроки до 1 месяца давление составляло 35–40 мм рт. ст., через 3 месяца – 30–35 мм рт. ст. и в дальнейшем не менялось. Данное обстоятельство обусловлено, на наш взгляд, имеющимися воспали-

тельными изменениями со стороны анастомоза, которые в ранние сроки после операции в определенной степени способствуют затруднению эвакуации. В дальнейшем, по мере стихания воспалительных явлений, свисающий клапан обеспечивает практически нормальное давление в зоне анастомоза. Таким образом, приведенные данные экспериментальных исследований свидетельствуют о надежной арефлюксной функции сформированного свисающего клапанного анастомоза и отсутствии грубых дегенеративно-дистрофических изменений со стороны слизистой в области соустья.

Экспериментальное обоснование эффективности внутриартериального введения цисплатина при интраоперационном облучении. Результаты эксперимента по определению радиосенсибилизирующих свойств продемонстрировали, что скорость роста карциномы Эрлиха контрольной группы выше, чем у животных других групп.

При сочетании воздействия на опухоль цисплатина и рентгеновского излучения показано, что скорость увеличения объема опухоли значительно меньше, чем в группе животных, которые подверглись только облучению. Так, на 12-е сутки наблюдения выявлены достоверные различия объема опухоли (табл. 1). Средняя продолжительность жизни животных в группе при сочетании воздействия цисплатина и рентгеновского облучения составила $55,3 \pm 2,7$ суток, что в 1,5 раза выше относительно контроля – $35,3 \pm 3,1$ суток и в 1,2 раза выше относительно группы животных, подвергнутых только облучению – $50,6 \pm 3,2$ суток. Коэффициент эффективности воздействия в группе, где на фоне вводимого цисплатина проводилось рентгеновское облучение, увеличивается в 1,2 раза относительно группы животных, подвергнутых только облучению, и в 1,13 раза относительно группы животных, подвергнутых воздействию метронидазола и рентгеновского излучения одновременно. Результаты экспериментальной работы показывают, что малые дозы цисплатина обладают радиосенсибилизирующими свойствами в условиях высокой однократной дозы облучения. При этом усиливается канцероцидный эффект лучевой терапии и увеличивается продолжительность жизни экспериментальных животных (табл. 2).

Реализация радиосенсибилизирующего эффекта цисплатина зависит от концентрации препарата в опухолевой ткани в момент облучения. Полученные результаты показали, что наибольшая концентрация платины определяется в крови, затем в опухолевой ткани и незначительное количество – в здоровой ткани (табл. 3). Таким образом, внутриартериальное введение цисплатина позволяет добиться достаточной концентрации препарата в тканях, пораженных опухолью, для потенцирования лучевого воздействия. Причем концентрация цисплатина в опухоли значительно выше, чем в нормальной ткани, что обеспечивает адресное сенсибилизирующее действие лучевой терапии, без повреждения критических органов в зоне облучения.

Таблица 1

Динамика увеличения объема опухоли (см³)

Сутки	Контроль	Цисплатин	Метронидазол	Rx	Цисплатин + Rx	Метронидазол + Rx
0	0,52 ± 0,09	0,51 ± 0,08	0,53 ± 0,06	0,53 ± 0,05	0,53 ± 0,08	0,53 ± 0,03
1	0,58 ± 0,10	0,52 ± 0,16	0,54 ± 0,05	0,46 ± 0,06	0,32 ± 0,09	0,43 ± 0,03
3	0,74 ± 0,16	0,55 ± 0,22	0,61 ± 0,05	0,43 ± 0,07	0,26 ± 0,11*	0,33 ± 0,05*
5	0,92 ± 0,17	0,64 ± 0,23	0,74 ± 0,12	0,58 ± 0,10	0,31 ± 0,10*	0,42 ± 0,09*
7	1,17 ± 0,28	0,87 ± 0,36	0,97 ± 0,23	0,76 ± 0,10	0,46 ± 0,11*	0,62 ± 0,11
10	1,67 ± 0,21	1,25 ± 0,36	1,39 ± 0,25	1,09 ± 0,1*	0,81 ± 0,1**	0,96 ± 0,10**
12	2,20 ± 0,29	1,74 ± 0,36	1,87 ± 0,27	1,47 ± 0,13*	1,06 ± 0,10**(*)	1,26 ± 0,10**
15	3,16 ± 0,29	2,40 ± 0,39	2,59 ± 0,28	2,08 ± 0,12**	1,70 ± 0,10***(*)	1,93 ± 0,10***
18	4,05 ± 0,40	3,03 ± 0,57	3,41 ± 0,39	2,86 ± 0,10**	2,45 ± 0,10***(*)	2,65 ± 0,10**

Примечание: * – достоверное различие с контролем при $P < 0,05$; ** – достоверное различие с контролем при $P < 0,01$; *** – достоверное различие с контролем при $P < 0,001$; (*) – достоверное различие с облучением животных при $P < 0,05$

Таблица 2

Средняя продолжительность жизни животных

Группы	Коэффициент эффективности воздействия	Средняя продолжительность жизни
Контроль	–	35,3 ± 3,1
Цисплатин	1,455 ± 0,061	40,1 ± 2,4
Метронидазол	1,364 ± 0,044	37,3 ± 3,1
Rx	1,691 ± 0,036	50,6 ± 3,2
Цисплатин + Rx	2,055 ± 0,042(*)	55,3 ± 2,7
Метронидазол + Rx	1,818 ± 0,049	53,1 ± 3,5

Примечание: (*) – достоверное различие с облученными животными ($P < 0,05$).

Таблица 3

Концентрация платины в тканях

Ткань	Содержание Pt, %
Кровь из желудочно-сальниковой артерии	$7,9 \times 10^{-8}$
Периферическая кровь	$5,4 \times 10^{-8}$
Опухолевая ткань	$4,5 \times 10^{-8}$
Нормальная стенка желудка	$0,42 \times 10^{-8}$

Наибольшая концентрация цисплатина в крови обеспечивает максимальную концентрацию препарата в зоне облучения. Методом инверсионной воль-

тамперометрии было установлено, что наибольшая концентрация препарата в крови определяется через 30 минут от начала внутриаартериальной инфузии

Таким образом, ИОЛТ при раке желудка необходимо проводить через 30–40 минут от начала регионарной инфузии цисплатина, для того чтобы добиться максимального сенсibiliзирующего эффекта.

Теоретическое и экспериментальное обоснование применения препарата «Мезогель» в качестве транспортного средства доставки цисплатина при комбинированном лечении рака желудка. С целью создания условий для пролонгированного действия цисплатина, представляющего собой комплексное соединение двухвалентной платины, изучено взаимодействие с полимером-носителем окисленной оксидом азота (IV) целлюлозой – монокарбоксил-целлюлозой. Имобилизация цитостатика на природных биодegradируемых полимерах-носителях позволяет снизить токсичность, обеспечить длительное и равномерное поступление препарата к органу-мишени. Гель на основе метилцеллюлозы псевдопластичен, физиологически инертен, обладает высокой адгезией к биологическим тканям, хорошей смачивающей и флотационной способностью, нетоксичен.

Были выполнены физико-химические исследования, целью которых являлось спектрофотометрическое изучение взаимодействия «Линтекс-Мезогеля» с цисплатином и сывороткой крови.

Поскольку состояние электронных переходов в молекулах реагирующих компонентов четко и ясно прослеживается на электронных спектрах поглощения (ЭСП), данный метод был использован для получения результатов на качественном уровне (спектры сняты на UV/VIS спектрофотометре UVIKON 943 в 1 см кюветах, ширина щели – 2 нм).

В ЭСП цисплатина наблюдается одна основная полоса поглощения (ПП) при 220 нм и слабый пик с $\lambda_{\max} \sim 295$ нм.

На рисунке 2 приведены спектры исходных веществ: цисплатина, (на спектре – PI) мезогеля и сыворотки крови. Из них 2 компонента (цисплатин и мезогель, спектры 1 и 2) имеют ЭСП с дифференцированными максимумами поглощения аналитических длин волн: λ_{\max} – 205, 220 и 300 нм соответственно. А для сыворотки первый максимум поглощения различается только по форме и интенсивности от второй ПП для цисплатина ($\lambda_{\max} = 300$ нм).

На рисунке 3 представлены электронные спектры для сочетаний 3 реагентов – мезогель + цисплатин (спектр 1) и сыворотка + цисплатин (спектр 2).

Спектр 1 (мезогель + цисплатин) содержит ПП при $\lambda_{\max} = 220$ нм (как в свободном цисплатине) и левое плечо при $\lambda_{\max} = 205$ нм (как в свободном мезогеле). Но положение второго максимума для цисплатина смещается на 25 нм и трансформируется в появлении правого плеча основного пика при $\lambda_{\max} = 275$ нм, что свидетельствует об имеющем место слабом взаимодействии между парой реагентов (мезогель и цисплатин).

В ЭСП спектра 2 (сыворотка + цисплатин) присутствует главный пик с $\lambda_{\max} = 300$ нм, характерный для сыворотки, но его интенсивность значительно возрастает на фоне полного отсутствия главной ПП цисплатина. По-видимому, имеет место прочное комплексообразование между компонентами сыворотки и цисплатина.

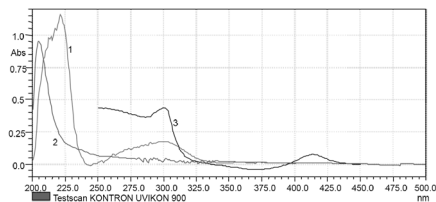


Рис. 2. Электронный спектр поглощения цисплатина (1), мезогеля (2) и сыворотки крови (3).

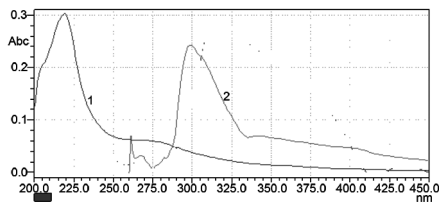


Рис. 3. Электронный спектр поглощения комбинаций мезогеля и цисплатина (1), сыворотки крови и цисплатина (2).

Известно, что системное применение цитостатиков характеризуется невысоким терапевтическим эффектом из-за низкой селективности процесса их доставки к опухолевому очагу и побочными токсическими осложнениями. Интраперитонеальное введение препаратов является вариантом регионарной, адресной доставки противоопухолевого агента. Вместе с тем, известен «Способ профилактики образования послеоперационных спаек серозных полостей», когда в процессе оперативного вмешательства на органах места вероятного образования спаек покрывают стерильным водным гелем метилцеллюлозы.

При нанесении геля метилцеллюлозы на висцеральную/париетальную брюшину он равномерно покрывает серозную оболочку органов, что, с одной стороны, разоблачает тканевые поверхности, подвергшиеся хирургической агрессии, препятствуя их консолидации и образованию спаек, а с другой – обеспечивает постепенный, дозированный выход цитостатика и его поступление в опухоль.

Таким образом, применение гелевой композиции на основе метилцеллюлозы и цитостатика обеспечивает двойной эффект – возможность пролонгированного и дозированного высвобождения цитостатика к тканям пораженного органа и реализацию «барьерной» функции для профилактики спаек.

Теоретическое и экспериментальное обоснование применения магнитоуправляемых нанокompозитных материалов для векторной доставки цитостатика

Физико-химическая аттестация магниточувствительных нанопорошков

Размер частиц железа в углеродной оболочке, в соответствии с данными просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) (измерение ~ 200 частиц), составляет от 5 до 10 нм. Средний размер частиц нанопорошков магниевого феррита $MgFe_2O_4$ и оксида железа Fe_3O_4 не превышает 18 нм.

В Рамановском спектре нанопорошка Fe(C) присутствуют 2 больших пика, которые дают возможность предположить наличие в углеродной оболочке углерода в 2 гибридных состояниях – sp^3 и sp^2 . Толщина внешнего углеродного слоя при этом не превышает 1–2 нм. Рентгенофазовый анализ образцов проводили с помощью дифрактометра ДРОН-6 в излучении $CuK\alpha$ в режиме пошагового сканирования с шагом 0,05 град (2θ). На рисунке 4 представлена типичная рентгенограмма для нанопорошков Fe(C). Заметное уширение линий обусловлено относительно малыми размерами частиц металлического Fe (менее 10 нм).

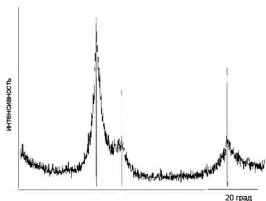


Рис. 4. Дифрактограмма Fe(C).

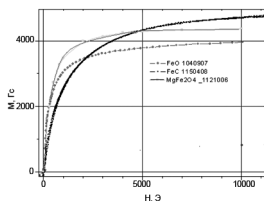


Рис. 5. Кривые намагничивания для нанопорошков Fe(C), Fe_3O_4 и $MgFe_2O_4$.

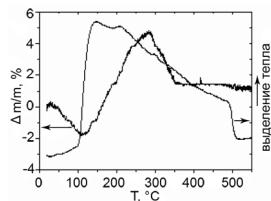


Рис. 6. ДТА-спектр Fe(C).

Исследование намагниченности образцов проводили на вибрационном магнетометре в полях до 27 кЭ. Кривые намагничивания исследованных ферритов (рис. 5) характеризуются довольно крутым начальным участком, что свойственно магнитомягким веществам, к которым и относятся эти соединения в массивном состоянии.

Для Fe(C) начальный участок кривой намагничивания более пологий, что связано с малостью размеров частиц и обусловленным этим явлением суперпарамагнетизма. В соответствии со значениями удельного магнитного момента, его наибольшим значением обладают нанопорошки Fe(C).

На рисунке 6 приведены типичные кривые ДТА и ТГ для исследованных нанопорошков железа 1-5 Fe(C), которые были записаны в условиях неизотермического окисления образцов на воздухе (дериватограф Q-1500 D). Интенсивный экзо-эффект регистрируется на спектре в виде пика с размытым максимумом в диапазоне температур 100–200 °C и соответствует сгоранию углеродного слоя и окислению металла. Данная стадия, в свою очередь, сопровождается уменьшением массы образца за счет летучих продуктов (CO_2 и CO), а также растрескиванием защитной углеродной оболочки и открытием доступа кислорода воздуха к ядру металла, который также начинает окисляться с образованием различных оксидных форм железа.

Процессы горения углерода и окисления железа завершаются около 500 °C. Нужно отметить, что при температуре до 100 °C углеродная оболочка сохраняет свою целостность и сплошность и выполняет защитную функцию достаточно прочного покрытия.

Химическое тестирование поверхности нанопорошков

Исследование состояния поверхности нанопорошков в образцах осуществляли методом ИК спектроскопии, а также путем химического тестирования газообразным аммиаком (для выявления кислотных центров) и модельной реакции окисления изопропилбензола (ИПБ) (в присутствии молекулярного кислорода).

Согласно результатам термодесорбционного анализа, молекулы-зонды NH_3 на гетерогенной поверхности нанопорошков $\text{Fe}(\text{C})$ не сорбируются. Это позволяет предполагать отсутствие Бренстедовских кислотных центров и центров Льюиса. В соответствии с ИК спектрами (ИК-Фурье спектрометр Nexus Nikolet N5700), на поверхности нанопорошков железа в углероде отсутствуют функциональные группы.

Было обнаружено, что тепловые эффекты, зарегистрированные в модельной реакции окисления кумола, для образцов $\text{Fe}(\text{C})$ и оксида железа Fe_3O_4 , по уровню значений могут соответствовать физическим процессам смачивания и адсорбции, но не связаны с протеканием основной реакции. В то же время, наноразмерный магниевый феррит MgFe_2O_4 «запускает» собственно реакцию окисления кумола, о чем свидетельствует высокое значение теплового эффекта.

На примере нанопорошков $\text{Fe}(\text{C})$ было установлено, что результаты физико-химических анализов для одного и того же образца остаются неизменными в течение 10 дней их хранения на воздухе, что свидетельствует об их относительной стабильности.

Таким образом, результаты физико-химического тестирования поверхности серии нанопорошков $\text{Fe}(\text{C})$ свидетельствуют об отсутствии поверхностных активных центров, которые могут обуславливать проявление реакционной способности в превращениях, протекающих по кислотному и свободнорадикальному механизмам. Как известно, вклад такого рода механизмов в реализацию биологических процессов весьма существенен.

Исследование взаимодействия нанопорошков $\text{Fe}(\text{C})$ с цисплатином

Данное исследование было мотивировано поиском новых наноферромагнетиков для магниточувствительных липидных композитов, инкапсулирующих цисплатин.

В этой связи представлялось вполне обоснованным исключить возможность взаимного влияния цисплатина и ферромагнитного нанопорошка, а также переход в его присутствии цис-формы цисплатина в фармакологически неактивную транс-модификацию.

Электронные спектры поглощения растворов образцов записывали на спектрофотометре Uvikon 943 (кварцевая кювета, толщина слоя 1 мм) в диапазоне 200–700 нм. Было обнаружено, что электронный спектр цисплатина в составе дисперсии цисплатин и нанопорошок после выдерживания в среде

0,9%-го раствора хлорида натрия при температуре 37 °С в течение 24 часов не претерпевает изменений, а это означает, что изомеризации цисплатина в исследованных условиях не происходит. Данный результат, в свою очередь, дополнительно свидетельствует об инертности металлического ядра в отношении химических факторов окружающей среды в условиях, приближенных к биологическим.

Влияние *in vitro* нанопорошка железа и его оксида на структурно-функциональную организацию костного мозга

Экспериментальные исследования показали (табл. 4), что в изучаемых группах не выявлены статистически значимые различия морфологических показателей культуры костного мозга *in vitro*.

Таблица 4

Количество окрашенных ядросодержащих клеток (% от исходного) и ОКК в культуре костного мозга мышей Balb/c через 1 ч после добавления взвесей нанопорошков в конечной концентрации 3 мг/л ($X \pm m$)

Группы наблюдений	Окрашенные клетки	ОКК
Негативный контроль токсичности с добавлением 0,9 % NaCl ($n = 5$)	138,73 ± 24,92	81,25 ± 7,73
Fe ₃ O ₄ ($n = 5$)	120,72 ± 12,16	93,62 ± 11,19
Fe(C) ($n = 5$)	137,77 ± 16,09	97,37 ± 10,29
Позитивный контроль токсичности с добавлением H ₂ O ₂ ($n = 6$)	157,82 ± 11,59	81,96 ± 9,97

Общая клеточность (общее количество кариоцитов (ОКК)) и гибель миелокариоцитов путем некроза, оцененные по внутриклеточному проникновению трипанового синего, после добавления наночастиц варьировали в пределах значений негативного и позитивного контролей токсичности. При этом структурно-функциональная активность клеток костного мозга, оцененная по содержанию гемопоэтических островков (ГО), снижалась практически в 1,5–2 раза после добавления в культуру перекиси водорода (табл. 5). Особенно резко падало (на 45 % по сравнению с негативным контролем) количество ГО, центральный элемент которых окрашивается нейтральным красным. Следует отметить, что наночастицы магнетита оказывали на кроветворные островки действие, близкое по своей амплитуде к эффекту H₂O₂, приводящее к снижению суммарного содержания ГО до 70 % ($p = 0,031$) от уровня негативного контроля токсичности. С другой стороны, прямой контакт наночастиц железа в углеродной оболочке с кроветворными клетками не приводил к нарушению их ассоциаций, играющих важную роль в процессах кроветворения. Содержание ГО варьировало в пределах значений негативного контроля токсичности и превышало аналогичные показатели (окрашенные ГО, сумма ГО) в позитивном контроле токсичности.

**Содержание ГО (% от исходного) в костном мозге мышей Balb/c
через 1 ч после добавления взвесей нанопорошков
в конечной концентрации 3 мг/л ($X \pm t$)**

Группа наблюдений	Содержание ГО		
	Окрашенные ГО	Неокрашенные ГО	Сумма ГО
Негативный контроль токсичности с добавлением 0,9%-го NaCl ($n = 5$)	126,15 ± 15,27	224,38 ± 28,27	161,06 ± 14,42
Fe ₃ O ₄ ($n = 5$)	91,68 ± 11,30	148,18 ± 24,22	113,45 ± 11,08*
Fe(C) ($n = 5$)	137,35 ± 22,35 ⁺	175,17 ± 8,66	153,30 ± 15,20 ⁺
Позитивный контроль токсичности с добавлением H ₂ O ₂ ($n = 6$)	69,03 ± 16,21*	142,18 ± 30,51	92,78 ± 10,74*

Примечания: * – достоверность различия показателей относительно негативного контроля токсичности; ⁺ – достоверность различия показателей относительно позитивного контроля токсичности.

In vitro оценка токсического эффекта цисплатина в составе магнитоуправляемого липосомального композита на клетки аденокарциномы Эрлиха. Как следует из данных, представленных на рисунке 7, один цисплатин в конечной дозе 1/10 ЛД₅₀ оказывал *in vitro* примерно одинаковое цитотоксическое действие на здоровые спленоциты и опухолевые клетки, зафиксированное по увеличению проницаемости их цитоплазматических мембран для красителя трипановый синий. Последовательное добавление в систему фосфатидилхолина и наночастиц Fe(C) статистически значимо повышало (более чем на 20 %) относительное количество погибших клеток аденокарциномы в сравнении со спленоцитами. Построение линий тренда (величина линейной аппроксимации $R = 0,96-0,99$) при последовательном добавлении компонентов системы показало скорость прироста числа погибших опухолевых клеток 36 % при 26 % для иммунокомпетентных клеток.



Рис. 7. Жизнеспособность клеток аденокарциномы Эрлиха и спленоцитов мыши через 24 ч культивирования с липидными композитами цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке. Состав исследуемых систем *in vitro* и *in vivo*: **1** – фосфатный буфер; **2** – фосфатный буфер + цисплатин; **3** – фосфатный буфер + фосфолипидный концентрат + цисплатин; **4** – фосфатный буфер + фосфолипидный концентрат + цисплатин + Fe(C).

***In vivo* оценка токсического эффекта цисплатина в составе магнитоуправляемого липосомального композита на клетки аденокарциномы Эрлиха.** Анализ гистологических препаратов показал, что при подкожном введении клетки аденокарциномы Эрлиха пытаются сформировать железистоподобные структуры. Опухоль построена из резко атипичных железистых трубочек, имеющих разные размеры и форму.

В клетках опухолевой ткани имеет место резко выраженный клеточный атипизм, что сопровождается образованием клеток разной формы и размеров с анизо- и гиперхромными полиморфными ядрами. Среди опухолевых клеток определяются атипичные гигантские клетки с множественными ядрами (4–6 ядер).

Внутриопухолевое введение цисплатина *in vivo* вызывало статистически значимое 2–3-кратное уменьшение размеров и массы подкожного узла аденокарциномы Эрлиха (табл. 6).

Таблица 6

Морфологические и гистологические показатели подкожного роста аденокарциномы Эрлиха после курсового введения препаратов ($X \pm t$)

Показатели	Номер группы (n = 10)			
	1	2	3	4
Диаметр опухоли (см)	2,44 ± 0,02	0,88 ± 0,06 $p_1 < 0,01$	2,36 ± 0,03 $p_2 < 0,01$	1,09 ± 0,05 $p_3 < 0,01$
ОМО (%)	28,4	8,4 $p_1 < 0,01$	22,4 $p_2 < 0,01$	6,7 $p_3 < 0,01$
ТРО (% по массе опухоли)	0	78,0 $p_1 < 0,01$	22,0 $p_2 < 0,01$	81,0 $p_3 < 0,01$
ОМО × S опухоли на срезе (%)	24,0 ± 1,7	7,2 ± 0,34 $p_1 < 0,01$	8,96 ± 0,67 $p_2 < 0,01$	2,21 ± 0,13 $p_3 < 0,01$
Площадь опухолевой ткани на срезе (%)	83,0 ± 6,0	86,0 ± 4,0	40,0 ± 3,0 $p_2 < 0,01$	33,0 ± 2,0
Площадь инфильтрата на срезе (%)	30,0 ± 3,0	54,3 ± 3,0 $p_1 < 0,01$	70,0 ± 3,0 $p_2 < 0,01$	13,0 ± 1,0 $p_3 < 0,01$
Площадь соединительной ткани на срезе (%)	0	0	0	54,0 ± 2,0 $p_3 < 0,01$
Число клеток инородных тел на 1 мм ²	95,6 ± 7,4	102,9 ± 10,5	311,7 ± 74,6 $p_2 < 0,01$	единичные

Примечания: *n* – количество животных и срезов опухолевых узлов в каждой группе; π_1, π_2, π_3 – достоверность различия показателей с аналогичными в группах с соответствующим номером; номер группы соответствует номеру системы Т1–Т4.

Рост размеров и массы опухолевого узла может быть связан не только с основным процессом, но и с реакцией макроорганизма, приводящей к отеку, инфильтрации, некрозу и склерозу патологического очага. Так, 3-я система по морфологическим индексам (размер, масса опухолевого узла, ТРО) ухудшала, а по гистологическим (площадь опухолевой ткани) – усиливала противоопухолевое действие цисплатина.

Показатели массы, размеров и ТРО опухоли не коррелировали с площадью опухолевой ткани, выявленной на срезах, что позволило перемножить их

вероятности и ввести новый показатель эффективности исследуемых групп (ОМО × площадь опухоли на срезе). При этом в срезах опухолевой ткани в 3 раза увеличивалось число гигантских клеток.

Наиболее значительной противоопухолевой активностью *in vivo* обладала 4-я система композитов, состоящая из мицеллярной формы цитостатика с наночастицами пироуглеродного железа. В сравнении с другими группами наблюдения обращал на себя внимание факт более чем 50%-ного фиброза опухолевого узла при малом количестве инфильтрата и гигантских клеток на гистологических срезах.

Оценка *in vivo* побочных эффектов применения цисплатина в составе магнитоуправляемого липидного композита. В эксперименте на мышцах показано, что у мышшей-опухоленосителей Balb/c в паренхиме печени гепатоциты формируют четкую печеночную дольку, включающую обычные печеночные пластинки, триады, синусоидные капилляры и центральные вены. Печеночные пластинки состоят из 2 рядов гепатоцитов и, радиально соединяясь, замыкаются в центральную вену. Между гепатоцитами отмечаются мелкие скопления (2–3 клетки) лимфоцитоподобных клеток (pit клетки).

Внутриопухолевое применение цисплатина (группа 2) приводило к резкому увеличению признаков компенсаторно-приспособительной перестройки паренхимы печени. В препаратах выявляли признаки венозного полнокровия центральной вены. Синусоидные капилляры расширены, эндотелиальные клетки набухшие. Полиморфноклеточный инфильтрат очаговый, локализуется периваскулярно. Определяли большое число гепатоцитов с признаками зернистой дистрофии, некротизированные клетки. Реакция Перлса отрицательная. Статистически значимо возростали, в сравнении с опухолевыми животными (группа 1), активность воспалительного процесса, оцененная по плотности инфильтрата (практически в 2 раза), количество гепатоцитов с морфологическими признаками дистрофии (в 785 раз) и гибели путем некроза (в 1906 раз). Как следствие, усиливались признаки регенерации органа, связанные с ростом числа двуядерных гепатоцитов (в 749 раз).

Липидная форма цисплатина (группа 3) при внутриопухолевом назначении снижала системный токсический эффект цитостатика. В сравнении с группой 2 наблюдали статистически значимое уменьшение (в 1,5–2 раза) количества некротизированных и, соответственно, двуядерных гепатоцитов. При внутриопухолевом введении липидного композита цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке (группа 4) системное токсическое действие цитостатика на печень мышшей существенно уменьшалось (табл. 7). За исключением признаков дистрофии гепатоцитов, остальные показатели оказались значительно (в 2,5–7,5 раз) ниже таковых в группе 3. При этом в группе 4 уровень клеток, несущих морфологические знаки некроза, статистически не отличался от соот-

ветствующего показателя у животных-опухоленосителей, получавших только растворитель (фосфатный буфер).

На гистологических препаратах качественные изменения печеночной паренхимы оказались незначительными. Сосудистые изменения не выражены. Большая часть гепатоцитов находится в состоянии белковой и жировой дистрофии. По периферии печеночных долек выявляется выраженный фиброз.

Таблица 7

Морфологические показатели печени у мышей Balb/c после курсового введения препаратов в подкожный узел аденокарциномы Эрлиха ($X \pm t$)

Номер группы (n = 10)	Плотность инфильтрата в 1 мм ²	% гепатоцитов с признаками дистрофии	% некротических форм гепатоцитов	% двуядерных гепатоцитов
1	126,23 ± 12,20	6,14 ± 0,68	0,89 ± 0,31	2,22 ± 0,22
2	234,55 ± 38,9 $p_1 < 0,016$	48,23 ± 7,47 $p_1 < 0,000026$	16,96 ± 1,70 $p_1 < 10^{-6}$	16,63 ± 0,71 $p_1 < 10^{-6}$
3	211,86 ± 25,19	40,29 ± 6,45	8,23 ± 1,19 $p_2 < 0,0006$	10,27 ± 1,75 $p_2 < 0,0036$
4	27,32 ± 3,52 $p_1 < 10^{-6}$ $p_3 < 10^{-6}$	29,07 ± 2,53 $p_1 < 10^{-6}$	2,19 ± 0,44 $p_3 < 0,00015$	4,36 ± 0,57 $p_1 < 0,0037$ $p_3 < 0,0037$

Примечания: n – число животных и срезов печени в каждой группе; p_1 , p_2 , p_3 – достоверность различия показателей с аналогичными в группах с соответствующим номером.

Анализ гистологических срезов легкого у мышей-опухоленосителей, получавших только растворитель (фосфатный буфер; группа 1), показал в некоторых участках в межальвеолярных промежутках мелкие диапедезные кровоизлияния с небольшим очаговым лимфоцитарным инфильтратом. Венозное полнокровие слабо выражено. Мелкие бронхи сохраняют типичное строение и состоят из слизистой, волокнисто-хрящевой и адвентициальной оболочки.

Направленность структурных изменений легочной ткани у мышей после назначения различных форм цитостатика во многом схожа с нарушениями, зафиксированными в печени. При использовании групп 2 и 3 определяется выраженное полнокровие легких с резко расширенными венозными сосудами, диффузный полиморфноклеточный инфильтрат, который локализуется как в межальвеолярных перегородках, так и в собственной пластинке слизистой оболочки бронха. В некоторых бронхах инфильтрация под базальной мембраной сочетается с эксфолиацией бронхиального эпителия в просвет бронха. В отдельных альвеолах наблюдается скопление жидкости с признаками отека.

При внутриопухолевом введении липидного композита цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке (группа 4) в ткани легких определялся небольшой перибронхиальный фиброз. В некоторых участках просвет альвеол

эмфизематозно расширен, межальвелярные перегородки истончены, в них в небольшом количестве выявлялись лейкоциты.

У мышей с подкожным узлом перевиваемой аденокарциномы Эрлиха (группа 1) в почках определяется корковое и мозговое вещество. Корковое вещество представлено почечными тельцами, мозговое вещество – почечными канальцами. Почечное тельце образовано сосудистым клубочком и капсулой Боумана-Шумлянского, которая выстлана одним слоем подоцитов.

Внутриопухолевое введение цисплатина (группа 2) оказывало системное токсическое воздействие на паренхиму почек. В препарате имело место выраженное полнокровие коркового вещества почек с очагами кровоизлияния в клубочки почек. Просвет канальцев расширен, в некоторых из них определяются скопления эксфолированного цилиндрического эпителия, которые формируют цилиндры. Между канальцами определяется очаговый инфильтрат.

Применение липидной формы цисплатина (группа 3) практически не меняло характер качественных изменений почечной паренхимы: полнокровие коркового вещества почек с кровоизлияниями в клубочки, полиморфноклеточный инфильтрат, очаги десквамации эпителия канальцев с формированием цилиндров.

В то же время характер нарушений структуры почек резко менялся на фоне внутриопухолевого введения липидного композита цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке (группа 4). Наряду с расширением просвета канальцев и дегенеративными изменениями нефроцитов, сосудистые нарушения оказались мало выраженными.

Таким образом, нанопорошки железа в углеродной оболочке характеризуются высокой подвижностью в магнитном поле, химической инертностью и устойчивостью внешних пироуглеродных слоев, надежно защищающих металлическое ядро, и могут рассматриваться как перспективные наноразмерные биоферромагнетики. В связи с этим, для создания магниточувствительных наноразмерных носителей противоопухолевых препаратов оптимальными представляются нанопорошки железа в углеродной оболочке.

Липидная форма цисплатины и, тем более, магниточувствительный липидный композит цитостатика при внутриопухоловом назначении резко усиливает противоопухолевый эффект и снижает системное токсическое влияние цитостатика по сравнению с внутриопухолевым введением стандартной формы выпуска цисплатина. Другими словами, новые формы цитостатического препарата способствовали его относительной локализации в патологическом очаге.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

Непосредственные клинические результаты хирургического лечения рака желудка с формированием арефлюксного свисающего клапанного

пищеводно-кишечного/пищеводно-желудочного анастомоза. Учитывая предложенную оригинальную методику формирования арефлюксного пищеводно-кишечного/пищеводно-желудочного анастомоза, в исследование были включены хирургические вмешательства в объеме проксимальной резекции желудка и гастрэктомии. Методики выполнения гастрэктомий и субтотальных резекций соответствовали стандартным радикальным онкологическим операциям при раке желудка, с обязательным удалением регионарных лимфатических коллекторов большого и малого сальников с лимфодиссекцией, соответствующей методике Д2

Всего прооперировано 76 пациентов; 46 больным выполнена гастрэктомия (60,5%), 30 – проксимальная субтотальная резекция желудка (39,5%). Умерло 5 больных, совокупная послеоперационная летальность составила 6,6%.

В основной группе ($n = 35$), где формировался арефлюксный свисающий клапанный пищеводно-кишечный либо пищеводно-желудочный анастомоз, выполнено: гастрэктомий – 19 (54,3%), проксимальных резекций желудка – 16 (45,7%). В контрольной группе ($n = 41$) выполнено: гастрэктомий – 27 (65,9%), проксимальных резекций желудка – 14 (34,1%).

Непосредственно после оперативного вмешательства в основной группе умер 1 пациент, послеоперационная летальность составила 2,9%. В контрольной группе умерло 4 пациента, послеоперационная летальность составила 9,8%.

При анализе послеоперационной летальности в зависимости от объема выполненного хирургического вмешательства выявлено, что в контрольной группе при проксимальной резекции желудка умер 1 больной из 14 (7,1%), после гастрэктомии умерло 3 из 27 больных (11,1%).

Учитывая, что в группе пациентов, которым после гастрэктомии и проксимальной резекции желудка формировали арефлюксные свисающие клапанные анастомозы, после гастрэктомии смерти в раннем послеоперационном периоде не было, а после проксимальной резекции зарегистрирован 1 случай смерти из 16 (6,3%), то уровень послеоперационной летальности в нашем исследовании составил 6,5% после гастрэктомии и 6,7% после проксимальной резекции желудка.

Причиной летальных исходов в основной группе явилась острая сердечно-сосудистая недостаточность, в контрольной группе в 2 случаях послужил перитонит вследствие несостоятельности швов анастомоза (один больной умер после гастрэктомии, второй – после проксимальной резекции желудка). Третий больной погиб на 2-е сутки после гастрэктомии из-за острой сердечно-сосудистой недостаточности, а четвертый пациент умер из-за послеоперационного панкреонекроза. Наиболее частой причиной смерти в контрольной группе явился перитонит вследствие несостоятельности швов анастомоза.

Таким образом, при предлагаемой оригинальной методике формирования арефлюксного свисающего клапанного пищеводно-кишечного/пищеводно-

желудочного анастомоза после гастрэктомий и проксимальных резекций желудка по сравнению с контрольной группой не наблюдалось несостоятельности швов анастомоза, приводившей к летальному исходу.

Помимо послеоперационных осложнений, закончившихся летальным исходом, в клинической практике нередко встречаются осложнения, которые не представляют непосредственной угрозы жизни пациента, но значительно утяжеляют состояние больного в послеоперационном периоде и увеличивают время его пребывания в стационаре. К ним относят острые гнойно-воспалительные процессы брюшной полости, операционной раны, а также других органов. В основной группе, где использовался арефлюксный свисающий клапанный анастомоз по оригинальной методике, послеоперационные осложнения отмечены у 8 из 35 пациентов, что составило 22,6 %. В контрольной группе осложнения возникли у 10 из 41 пациента, что составило 24,4 %. Следует отметить, что общее количество осложнений в сравниваемых группах превышает число больных, у которых они развились, поскольку у некоторых пациентов имело место несколько послеоперационных осложнений одновременно.

Наиболее частые осложнения в основной группе – послеоперационная пневмония (8,6 %), острый панкреатит (5,7 %) и спаечная непроходимость (5,7 %), которая потребовала повторного оперативного вмешательства. В структуре осложнений в контрольной группе регистрировали перитонит (4,9 %), послеоперационную пневмонию (4,9 %), нагноение послеоперационной раны (4,9 %) и, реже, другие процессы.

Таким образом, в сравниваемых группах количество послеоперационных осложнений было практически идентичным. Однако необходимо отметить более клинически значимую выраженность осложнений в контрольной группе, о чем свидетельствует факт смерти 4 больных.

В ранние сроки после операции (на протяжении до 18 суток) в основной группе дисфагия наблюдалась лишь у 1 больного после гастрэктомии (5,2 %), а в контрольной группе – у 3 пациентов после гастрэктомии (11,1 %) и 2 пациентов после проксимальной резекции желудка (14,2 %). В качестве причины дисфагии зафиксирован послеоперационный анастомозит. Рефлюкс-эзофагит наблюдался в основной группе, где был сформирован арефлюксный свисающий клапанный анастомоз, у 2 (10,5 %) пациентов, которым была выполнена гастрэктомия, и у 1 (6,3 %) пациента с проксимальной резекцией желудка. В группе больных, которым был сформирован анастомоз по общепризнанной методике, рефлюкс-эзофагит выявлен в 7 (31,8 %) случаях после выполненной гастрэктомии и в 4 (28,6 %) случаях после проксимальной резекции желудка.

При анализе совокупной частоты (рис. 8) морфологических неблагоприятных исходов выявлено существенное снижение их частоты в основной группе

по сравнению с контрольной 4 (11,4 %) против 16 (39,0 %); $p = 0,047$. При анализе частоты демпинг-синдрома выявлено статистически значимое снижение частоты в совокупности операций (6 (17 %) против 17 (41,6 %), $p = 0,03$).



Рис. 8. Совокупная частота пострезекционных осложнений (морфологических – дисфагия, рефлюкс-эзофагит и функциональных – демпинг-синдром) при хирургическом лечении рака желудка.

На исходном этапе показатели функциональной шкалы EORTC QLQ-C30 в основной и контрольной группах были одинаковы (табл. 8). При обследовании через 3 месяца в основной группе регистрировали позитивную динамику, с меньшей выраженностью клинических симптомов в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). Именно формирование арефлюксных анастомозов на данном этапе лечения определяет в этой группе регрессию таких признаков как отрыжка, изжога, боли в животе, проблемы при приеме мягкой, твердой или жидкой пищи, которые являются наиболее тягостными субъективными проявлениями, существенно ухудшающими качество жизни больных в послеоперационном периоде. В отдаленные периоды наблюдения (через 5 и 10 месяцев) имела место стабилизация среднего показателя симптоматической шкалы, с сохранением достоверности различия относительно контрольной группы ($p < 0,05$). В контрольной группе степень неблагополучия по симптоматической шкале на всех этапах наблюдения соответствовала исходной.

Показатели общего статуса здоровья в основной и контрольной группах перед проведением лечения были идентичными – $37,2 \pm 9,2$ и $36,8 \pm 7,9$ ($p > 0,05$). Через 3 месяца после операции регистрировали динамическое повышение средних параметров общего статуса здоровья в обеих группах ($p < 0,05$). В дальнейшем данная позитивная динамика имела место только в основной группе. В контрольной группе наблюдали регресс среднего показателя общего статуса здоровья до исходного уровня.

Таким образом, в основной группе регистрировали более низкий процент осложнений и послеоперационной летальности и более высокое качество жизни больных в послеоперационном периоде с учетом показателей функциональной и симптоматической (модуль STO-22) шкал EORTC QLQ-C30 и параметров

общего статуса здоровья (по опроснику EORTC QLQ-C30) в сравнении с контрольной группой.

Таблица 8

Показатели EORTC QLQ-C30 в основной и контрольной группах в различные периоды после операций в баллах ($X \pm t$)

Период исследования (месяцы)	Основная группа $n = 35$	Контрольная группа $n = 41$
функциональная шкала		
0	62,5 ± 6,4	62,2 ± 7,1
3	70,3 ± 6,5	65,7 ± 6,3
5	94,6 ± 8,0 [^]	73,7 ± 8,2 [*]
10	89,3 ± 8,1 [^]	71,4 ± 7,9 [*]
симптоматическая шкала (модуль STO-22)		
0	42,1 ± 8,2	41,9 ± 7,6
3	13,3 ± 5,2 [^]	36,4 ± 8,3 [*]
5	11,0 ± 7,6 [^]	29,8 ± 9,2 [*]
10	12,9 ± 7,2 [^]	35,1 ± 7,9 [*]
общий статус здоровья		
0	37,2 ± 9,2	36,8 ± 7,9
3	62,2 ± 7,1 [^]	59,2 ± 7,1 [^]
5	66,2 ± 4,8 [^]	50,1 ± 7,1 [*]
10	61,7 ± 7,2 [^]	43,4 ± 8,9 [*]

Примечания: * – достоверность различия показателей у больных основной и контрольной групп ($\pi < 0,05$); [^] – достоверность различия показателей у больных основной и контрольной групп относительно аналогичных на исходном этапе ($\pi < 0,05$).

Непосредственные результаты клинического использования цисплатина в новых технологиях лечения рака желудка. Для оценки эффективности применения цисплатина в новых технологиях лечения местнораспространенного рака желудка в исследовании использовали 4 группы пациентов:

III – больные местнораспространенным раком желудка с использованием цисплатина при внутриаартериальном введении на фоне ИОЛТ в дозе 10 Гр в комбинированном лечении (основная группа, $n = 35$);

IV – больные местнораспространенным раком желудка с использованием ИОЛТ в дозе 10 Гр в комбинированном лечении (группа контроля, $n = 35$);

V – больные местнораспространенным раком желудка с использованием цисплатина при интраперитонеальной химиотерапии в комбинированном лечении (основная группа, $n = 30$);

VI – больные местнораспространенным раком желудка с использованием системной химиотерапии 5 ФУ в комбинированном лечении (группа контроля, $n = 40$).

Всего прооперировано 140 пациентов; 70 больным выполнена гастрэктомия (50,0 %), 10 – проксимальная субтотальная резекция желудка (7,14 %), 60 – дистальная резекция желудка по Бильрот-II (42,9 %). Умерло 8 больных; совокупная послеоперационная летальность составила 5,7 %.

В III группе ($n = 35$), где на фоне ИОЛТ вводился цисплатин, выполнено: гастрэктомий – 19 (54,3 %), проксимальных резекций желудка – 4 (11,4 %), дистальных субтотальных резекций желудка – 12 (34,3 %).

В IV группе ($n = 35$), где проводилось комбинированное лечение с использованием интраоперационной лучевой терапии без дополнительного использования противоопухолевых препаратов, гастрэктомий выполнено у 18 (51,43 %) пациентов, проксимальных резекций желудка – у 1 (2,86 %) и дистальных субтотальных резекций желудка – у 16 (45,71 %) пациентов.

В V группе, где цисплатин использовался при интраперитонеальной химиотерапии ($n = 30$), выполнено: гастрэктомий – 17 (56,7 %), проксимальных резекций желудка – 4 (13,3 %), дистальных субтотальных резекций желудка – 9 (30,0 %).

В VI группе ($n = 40$), в которой проводилась комбинированное лечение с использованием системной химиотерапии 5 ФУ, выполнено: гастрэктомий – 16 (40,0 %), проксимальных резекций желудка – 1 (2,5 %), дистальных субтотальных резекций желудка – 23 (57,5 %). Данная группа использовалась как стандарт комбинированного лечения местнораспространенного рака желудка.

Непосредственно после оперативного вмешательства в основных группах (III и V) умер 1 пациент; послеоперационная летальность составила 2,9 %. В контрольных группах умерло 7 пациентов; послеоперационная летальность составила 9,3 %. При анализе послеоперационной летальности в зависимости от объема хирургической операции выявлено, что после проксимальной резекции желудка умер 1 больной в III основной группе из 4 (25 %). В контрольных группах – 1 больной из IV группы, что составило 100 %. После гастрэктомии умерло 3 из 34 больных (8,82 %) в контрольных группах, в основных группах летальных исходов не было.

Уровень послеоперационной летальности в нашем исследовании составил 4,3 % после гастрэктомии, 5,0 % после дистальной субтотальной резекции желудка и 20,0 % после проксимальной резекции желудка.

Причиной летальных исходов в раннем послеоперационном периоде в нашем исследовании в 3 случаях был послеоперационный панкреонекроз (два пациента умерло после гастрэктомии, третий – после проксимальной резекции желудка). Двое больных (после гастрэктомии и субтотальной дистальной резекции желудка) погибли из-за перитонита, который развился вследствие несостоятельности анастомоза. У двух пациентов зафиксирована смерть вследствие острой сердечной недостаточности после гастрэктомии и в одном случае – вследствие тромбоэмболии легочной артерии после субтотальной дистальной резекции желудка.

В основных группах, где использовались новые технологии комбинированного лечения, послеоперационные осложнения отмечены у 7 (20 %) из 35 пациентов (III группа) и у 7 (23,3 %) из 30 пациентов (V группа). В контрольных группах осложнения выявлены у 9 (25,7 %) из 35 пациентов (IV группы) и у 8 (20,0 %) из 40 больных (VI группы). Достоверности различия количества послеоперационных осложнений в исследуемых группах не зарегистрировано.

Наиболее частые осложнения в основных группах – послеоперационная пневмония (5,7 % в III группе и 6,7 % в V группе) и нагноение послеоперационной раны (6,7 % в V группе).

В структуре осложнений в контрольных группах регистрировали острый панкреатит (8,6 %), послеоперационную пневмонию и перитонит (5,7 %) в IV контрольной группе. Спаечную непроходимость, перитонит и кровотечение (5,0 %) – в VI контрольной группе.

Некоторое уменьшение количества осложнений в основных группах по сравнению с контрольными произошло, по-видимому, за счет снижения формирования острых спаечных и гнойных воспалительных процессов в брюшной полости, которые неизменно приводили к повторным операциям. Мы связываем это с применением в комбинированном лечении больных препарата «Линтекс-Мезогель», который используется не только как транспортное средство для доставки цисплатина, но и как противоспаечное средство. Кроме того, вероятно, имеет значение использование регионарной инфузии лекарственных препаратов у больных с установленным артериальным катетером, направленных на восстановление микроциркуляции в зоне оперативного вмешательства и предупреждение гнойно-воспалительных осложнений. Следовательно, проводилась профилактика возможных абдоминальных осложнений.

Таким образом, в сравниваемых группах количество послеоперационных осложнений было практически идентичным. Однако необходимо отметить более клинически значимую выраженность осложнений в контрольных группах, о чем свидетельствует факт смерти 7 больных.

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

В этом разделе диссертации представлены отдаленные результаты комбинированного лечения рака желудка III стадии с использованием новых технологий у больных, оперированных в период с 1994 по 2009 гг. Для анализа отдаленных результатов комбинированной терапии были прослежены исходы заболевания у 132 из 140 больных в течение 2 и более лет после выписки. Все пациенты находились на диспансерном учете в поликлиническом отделении лечебных учреждений, с регулярным обследованием 1 раз в 3 месяца в течение первых 2 лет и 1 раз в 6 месяцев в дальнейшем. При

неявке больного на осмотр информацию о его состоянии запрашивали по месту жительства.

При использовании ИОЛТ в сочетании с цисплатином прогрессирование процесса в течение первого года наблюдения выявлено лишь у 1 больного, в течение второго года наблюдения – у 4-х пациентов. Во всех случаях прогрессирование процесса было связано с отдаленным метастазированием (рис. 9).

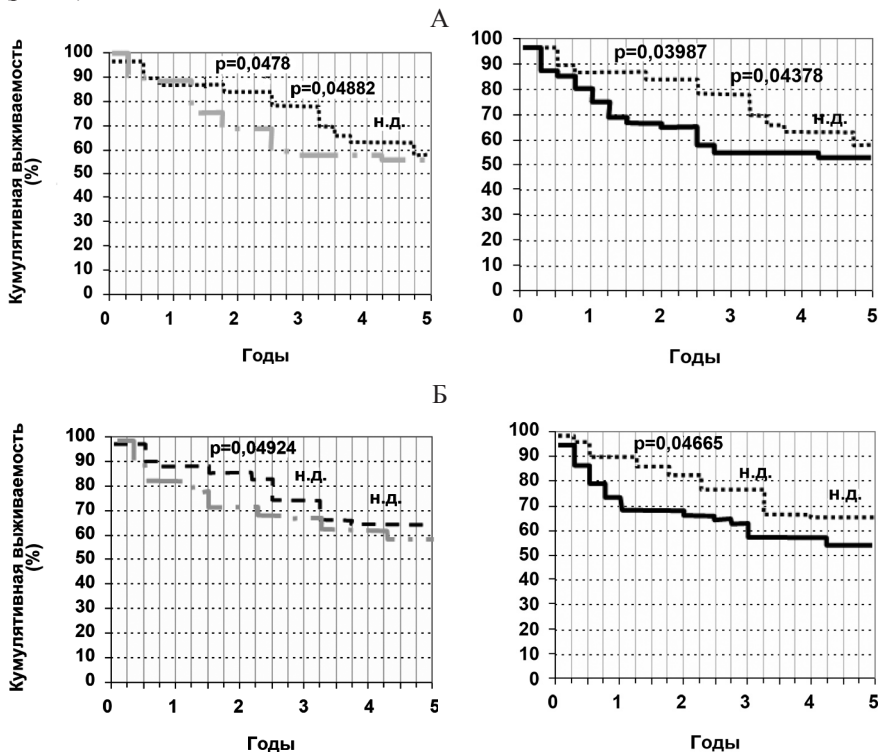


Рис. 9. Кумулятивная безрецидивная (А) и общая (Б) выживаемость больных раком желудка III стадии с различными вариантами терапии. — — — ИОЛТ + цисплатин (III группа), — · — · — ИОЛТ (IV группа), интраперитонеальная химиотерапия (V группа), ————— 5 ФУ + радикальная операция (VI группа).

При использовании интраперитонеальной химиотерапии цисплатином в течение 1 года наблюдения прогрессирование рака также выявлено у 1 пациента, на протяжении 2 года наблюдения – у 3 больных. При этом прогрессирование в 2 случаях было определено отдаленным метастазированием и в 2 случаях – местным. В IV контрольной группе, где при комбинированном лечении использовалась ИОЛТ без дополнительной химиотерапии, в 6 слу-

чаях из 10 выявлено прогрессирование процесса в первый год наблюдения и в 4 случаях – во второй год. Причем в 3 случаях прогрессирование определялось за счет местного рецидивирования и в 7 случаях за счет отдаленного метастазирования.

В VI контрольной группе (комбинированное лечение с системной химиотерапией 5 ФУ) в 6 случаях из 8 прогрессирование заболевания было обусловлено отдаленным метастазированием, в 2 случаях – местным рецидивированием. Причем в течение первого года наблюдения (преимущественно через 6–9 месяцев после операции) прогрессирование болезни зафиксировано у 3 больных, на протяжении второго года – у 5 пациентов.

Таким образом, в основных группах по сравнению с контрольными появление отдаленных метастазов проходило в более поздние сроки, в основном в течение второго года наблюдения. Полученные данные свидетельствуют о более высокой эффективности предлагаемых методов комбинированного лечения местнораспространенного рака желудка.

На рисунке 9 представлены результаты анализа 5-летней кумулятивной безрецидивной и общей выживаемости больных раком желудка III стадии в зависимости от варианта терапии. Показатель 2-летней выживаемости в III группе больных, где в комбинированном лечении применяли ИОЛТ в сочетании с цисплатином, составил 81,4 %, тогда как в контрольной группе (IV) 2 года без признаков рецидива пережили только 69,6 % пациентов ($p = 0,04764$).

В V основной группе с интраперитонеальной химиотерапией без признаков рецидива прожили 82,3 % лиц, что также статистически достоверно отличается от контрольной группы – VI – 68,0 % ($p = 0,03987$). Данная тенденция сохраняется и к 3-му году наблюдения. Так, если в основных группах показатели 3-летней безрецидивной выживаемости составили 75,9 % (III группа) и 77,1 % (V группа), то в контрольных группах – 59,2 % и 61,5 % ($p = 0,04882$ и $p = 0,04378$ соответственно). К 5-летнему сроку наблюдения различия показателей 5-летней безрецидивной выживаемости нивелируются: 55,7 % и 54,4 %, 56,3 % и 51,1 % соответственно.

Общая 2-летняя выживаемость больных III основной группы составила 83,9 %, (против 71,3 % в контрольной группе IV; $p = 0,04924$); в V группе – 82,1 % (против 71,3 % в контрольной группе VI; $p = 0,04665$). Межгрупповой достоверности различия показателей общей 3-летней и 5-летней выживаемости в основных группах не зарегистрировано.

ВЫВОДЫ

1. При формировании арефлюксного свисающего клапанного эзофагогастроанастомоза (эзофаго-энтероанастомоза) при проведении проксимальной резекции желудка (гастрэктомии) мышечный жом и свисающий клапан

не имеют грубых дегенеративно-дистрофических изменений, сохраняют форму и структуру, обеспечивающую в эксперименте надежную арефлюксную функцию, что позволяет использовать данную методику в клинической практике.

2. В эксперименте показано, что цисплатин в дозе 20 мг/м² обладает радиосенсибилизирующими свойствами в условиях однократной дозы облучения 10 Гр, достигая наивысшей концентрации в тканях через 30 мин., что позволяет использовать методику внутриартериального введения препарата за 30-40 мин. до проведения интраоперационного облучения при комбинированном лечении местнораспространенного рака желудка.

3. Методом pH-метрии и электронной спектроскопии показана химическая стабильность цисплатина в составе композита с метилкарбоксилцеллюлозой в течение 10 часов, при этом цитостатик с сывороткой крови образует более прочные комплексы (поглощение в области свыше 320 нм), чем с метилкарбоксилцеллюлозой, обуславливая появление градиента передвижения цисплатина за счет конкурентного взаимодействия композита с биологическим субстратом и предопределяет запуск механизма дозированной адресной доставки цитостатика к опухоли при интраперитонеальном введении.

4. Разработана и апробирована экспериментальная методика синтеза магниточувствительных ультрамелкодисперсных липидных композитов цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке, намагниченность которых во внешнем магнитном поле составляет 0,18 кАм²/г, что соответствует 0,2%-ной концентрации Fe(C) и достаточно, чтобы обеспечить его концентрацию в очагах патологического процесса при интраперитонеальном введении во время хирургического лечения местнораспространенного рака желудка.

5. На модели аденокарциномы Эрлиха доказано *in vitro* и *in vivo*, что при выраженном противоопухолевом эффекте липидный композит, содержащий липосомальную/мицеллярную формы цитостатика и инкапсулированного наноферромагнетика, не обладает заметной токсичностью на клеточном и тканевом уровнях. Механизм его противоопухолевого эффекта обусловлен прямым цитотоксическим действием на опухолевые клетки и усилением реактивности соединительной ткани. Опухолевый узел при местном введении экспериментальной формы липидного композита замещался на 60 % соединительной тканью.

6. При клиническом использовании методики формирования арефлюксных свисающих клапанных анастомозов после радикальных операций при хирургическом лечении рака желудка не наблюдалось несостоятельности швов анастомоза, приведшей к летальному исходу. Этот метод уменьшает риск формирования пострезекционных осложнений по сравнению с группой контроля (совокупных, морфологических – с 39,0 до 11,4 % ($p < 0,05$) и функциональных – с 41,6 до 17,0 % ($p < 0,05$)), а также обеспечивает улучшение качества

жизни в послеоперационном периоде, с позитивной динамикой показателей функциональной шкалы (с $71,4 \pm 7,9$ до $89,3 \pm 8,1$ баллов), общего статуса здоровья (с $43,4 \pm 8,9$ до $61,7 \pm 7,2$ баллов) и снижением выраженности симптомов пострезекционных осложнений (с $35,1 \pm 7,9$ до $12,9 \pm 7,2$ баллов).

7. Технология ИОЛТ на фоне внутриартериального введения цисплатина при комбинированном лечении местнораспространенного рака желудка статистически значимо увеличивает 2-летнюю безрецидивную и общую выживаемость пациентов до 81,4 % и 83,9 % соответственно, в сравнении с интраоперационным облучением без использования радиосенсибилизатора – 69,6 % и 71,9 % ($p < 0,05$), при этом дополнительная регионарная внутриартериальная инфузия лекарственных препаратов является эффективным методом профилактики абдоминальных осложнений в раннем послеоперационном периоде.

8. Технология интраперитонеальной химиотерапии цисплатином на фоне метилцеллюлозы при комбинированном лечении местнораспространенного рака желудка статистически значимо увеличивает 2-летнюю безрецидивную и общую выживаемость пациентов до 82,3 % и 82,1 % соответственно в сравнении с системной химиотерапией – 68,0 % и 71,3 % ($p < 0,05$), а также наблюдается тенденция к уменьшению количества абдоминальных осложнений (на 8,52 %) и послеоперационной летальности (на 7,79 %).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Интраоперационное облучение при операбельном раке желудка / С.А. Антипов [и др.] // Проблемы современной онкологии : матер. IV Всерос. съезда онкологов. – Рн/Д, 1995. – С. 144–145.

2. Возможности и перспективы интраоперационной лучевой терапии при раке желудка / С.А. Антипов [и др.] // Актуальные вопросы современной лучевой диагностики : матер. конф. – Томск, 1995. – С. 52–53.

3. Интраоперационное облучение пучком быстрых электронов в комбинированном лечении рака желудка / Б.Н. Зырянов, С.А. Антипов // Актуальные вопросы медицинской радиологии: матер. межрегион. конф. – Челябинск, 1997. – С. 35–36.

4. Kolpakova N.A., Kaminskay O.V., Antipov S.A. Platinum determination in biological objects by inversion voltammetric method // The abstract book of International Congress on Analytical Chemistry. – Moscow, 1997. – P. 27.

5. Intraoperative radiotherapy in cancer of the stomach. Five-year results / S.A. Antipov [et al.] // Revista de Medicina. Universidad de Navarra. – 1998. – Vol. XLII, N Extraordinario. – P. 48–49.

6. Antipov S.A., Afanasiev S.G., Tuzikov S.A. Cisplatin as a radiosensitizer for IORT of gastric cancer // Revista de Medicina. Universidad de Navarra. – 1998. – Vol. XLII, N Extraordinario. – P. 48.

7. Зырянов Б.Н., Антипов С.А., Афанасьев С.Г. Применение цисплатина в качестве радиомодификатора при интраоперационной лучевой терапии рака желудка. Актуальные проблемы клинической онкологии // К 50-летию онкологической службы республики Бурятия : матер. международ. конф. – Улан-Удэ, 1999. – С. 155–156.

8. Антипов С.А. Афанасьев С.Г., Тузиков С.А. Распределение цисплатина в стенке желудка при внутриаортальном введении // Проблемы современной онкологии : матер. юбил. конф. – Томск, 1999. – С. 11–12.

9. Экспериментальная оценка радиомодифицирующего действия цисплатины в условиях облучения высокой однократной дозой / С.А. Антипов [и др.] // Проблемы современной онкологии : матер. юбил. конф. – Томск, 1999. – С. 13–14.

10. Зырянов Б.Н., Антипов С.А., Афанасьев С.Г. Интраоперационное облучение на фоне радиосенсибилизации цисплатиной в комбинированном лечении больных раком желудка // Проблемы современной онкологии : матер. юбил. конф. – Томск, 1999. – С. 133–134.

11. Антипов С.А., Зырянов Б.Н., Афанасьев С.Г. Интраоперационная лучевая терапия рака желудка на фоне радиосенсибилизации цисплатиной // Высокие медицинские технологии в лучевой терапии злокачественных опухолей : матер. межрегион. конф. – Рн/Д, 1999. – С. 174–175.

12. The luminal-amplified chemiluminescence of neutrophils and monocytes in patients with gastric cancer after intraoperative radiotherapy using radiosensitizer sanazole / I.A. Shepetkin, N.V. Cherdinceva, S.A. Antipov [et al.] // **Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals**. – 1999. – Vol. 14, N 5. – P. 397–402.

13. Синтез магниточувствительных липосомных форм противоопухолевого препарата цисплатин-ЛЭНС / Т.А. Федущак, С.А. Антипов [и др.] // Актуальные вопросы инновационной деятельности в биологии и медицине: матер. 3-й международ. науч.-практ. школы-конф. МЕДБИОТЕК. – М., 2006. – С. 99–100.

14. Novel technologies to determine microelements status and real biological age are the basis of diseases diagnostics and premature aging prophylaxis / S.A. Antipov [et al.] // New technology in integrative medicine and biology: Proc. Intern. Scient. Interdisciplinary Workshop, Bangkok-Pattaya, Thailand, 1-13 March, 2006. – Bangkok-Pattaya, 2006. – P. 7–8.

15. The synthesis, of magnetosensitive liposomic forms of the anticancer agent cisplatin-lens / Т.А. Feduschak, S.A. Antipov [et al.] // Modern Issues of Innovation Activity in Biology and Medicine : Proc. The 3rd Intern. Scien. Conf. and Training School MEDBIOTECH, 4-5 Dec. 2006. – М., 2006. – P. 133–134.

16. Эффект *in vitro* наноразмерных частиц и магнитного поля на колониеобразующую активность унипотентных кроветворных прекурсоров / И.А. Хлусов, В.И. Итин, В.С. Седой, Т.А. Федущак, О.Г. Терехова, А.А. Магаева, Е.П. Найден,

С.А. Антипов [и др.] // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: III Всерос. симп. с международ. участием, – М., 2007. – С. 108–109.

17. Testing of human liver culture under physiotherapy of experimental toxic hepatitis / I.A. Khlusov, S.A. Antipov [et al.] // New technology in medicine and experimental biology : Proc. Intern. Scient.-Pract. Interdisciplinary Workshop, Pattaya-Bangkok, Thailand, 26 Febr-08 March, 2007. – Pattaya-Bangkok, Thailand, 2007. – P. 86.

18. Колониеобразующая активность унипотентных кроветворных прекурсоров при воздействии *in vitro* наноразмерных частиц ферритов в постоянном магнитном поле / И.А. Хлусов, Л.В. Загребин, С.С. Шестов, В.И. Итин, В.С. Седой, Т.А. Федущак, О.Г. Терехова, А.А. Магаева, Е.П. Найден, С.А. Антипов [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2008. – № 1. – С. 45–51.

19. Magnetic sensitive liposome complexes with incapsulated cytostatic and nanoferrromagnetic: new possibility in antineoplastic treatment / G.T. Dambaev, S.A. Antipov [et al.] // 6 Intern. Seminar «Drug Delivery System for Nanomedicine». – Liblice Castle, 2008. – P. 19–20.

20. Наноразмерные порошки металлов как носители ферромагнитных свойств липосомальных композитов / Т.А. Федущак, Г.Ц. Дамбаев, С.А. Антипов [и др.] // Полифункциональные наноматериалы и нанотехнологии : матер. Всерос. конф. с международ. участием, посвящ. 130-летию ТГУ. – Томск, 2008. – С. 156–157.

21. Magnetic sensitive liposome complexes with incapsulated cytostatic and nanoferrromagnetic: new possibility in antineoplastic treatment / G.T. Dambaev, S.A. Antipov [et al.] // **Nanotech Northern Europe 2008: abstr. Intern. congr.** – Copenhagen, 2008. – P.80–81.

22. Нанопоршки металлов в защитной углеродной оболочке как компоненты биodeградируемых микросфер и катализаторы гидрирования / Т.А. Федущак, А.Е. Ермаков, М.А. Уймин, С.А. Антипов [и др.] // Физикохимия ультрадисперсных (нано-) систем : Матер. 8-й Всерос. конф. (ФХУДС-VIII). – Белгород, 2008. – С. 83–82.

23. Магниточувствительные липосомальные композиты, инкапсулированные цитостатиком. Новые возможности в противоопухолевом лечении / Дамбаев Г.Ц., Антипов С.А. [и др.] // Матер. Международ. конф., посвящ. 80-летию онкологической службы Монголии. – Улан-Батор, 2008. – С. 102–103.

24. Possibility to use magnetically operated liposome composite encapsulated with cytostatic and nanoscaled ferromagnets / G.Ts. Dambaev, S.A. Antipov [et al.] // «NANOSAFE–2008»: abstr. Intern. Congr. – Grenoble, 2008. – P. 92–93.

25. Магниточувствительные липосомальные композиты инкапсулированные цитостатиком и наноферромагнетиком / Г.Ц. Дамбаев, С.А. Антипов [и др.] // Новые возможности в противоопухолевом лечении : матер. международ. форума по нанотехнологиям «Rusnanotech-2008». – М., 2008. – С. 423–425.

26. Антипов С.А., Дамбаев Г.Ц., Кокорев О.В. Исследование адресной доставки цитостатических препаратов в опухолевые клетки на модели *in vitro*, с помощью наноферромагнетиков : матер. съезда онкологов стран СНГ. – Ташкент, 2008. – С. 287

27. Наноразмерные носители противоопухолевых препаратов. Новые возможности в онкологическом лечении / Г.Ц. Дамбаев, С.А. Антипов [и др.] // Матер. 3-й Всерос. конф. по наноматериалам «НАНО-2009». – Екатеринбург, 2009. – С. 168.

28. Наноразмерные пироуглеродные порошки железа как биоферромагнетики / С.А. Антипов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – № 2. – С. 139–142.

29. Противоопухолевые эффекты *in vitro* и *in vivo* липидных композитов на основе цисплатина и наноразмерного ферромагнетика в углеродной оболочке / С.А. Антипов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 1. – С. 9–16.

30. Патофизиологические и клинические вопросы клеточной иммунотерапии рака пищеварительного тракта. Критический взгляд / С.А. Антипов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 3. – С. 105–112.

31. Новые методы биотерапии рака пищеварительного тракта / С.А. Антипов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2009. – № 6. – С. 31–36.

32. Противоопухолевые и токсические эффекты липидных композитов цисплатина и наноферромагнетика в углеродной оболочке / С.А. Антипов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2009. – № 6. – С. 8–13.

33. Наноразмерные носители противоопухолевых препаратов. Новые возможности в онкологическом лечении / Г.Ц. Дамбаев, С.А. Антипов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск, 2009. – № 6. – С. 45–50.

34. Возможности применения суперпарамагнитных поверхностно карбонизированных наносфер оксида железа в качестве контрастного препарата для T2-взвешенных МР-томографических исследований / О.Ю. Бородин, М.Л. Белянин, В.Д. Филимонов, А.Е. Ермаков, Т.А. Федущак, М.А. Уймин, П.С. Постников, С.А. Антипов [и др.] // Матер. III Всерос. нац. конгр. лучевых диагностов и терапевтов «РАДИОЛОГИЯ-2009». – М., 2009. – С. 69–70.

35. Дамбаев Г.Ц., Антипов С.А. Клинические результаты хирургического лечения рака желудка с формированием арелфлюксного свисающего клапанного пищеводно-кишечного/пищеводно-желудочного анастомоза // Сибирский Медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 44–48.

Патенты

1. Способ получения магниточувствительных липосом: пат. 2357724 РФ: МПК А61К9/127 / Т.А. Федущак, Г.Ц. Дамбаев, С.А. Антипов, И.А. Хлусов, А.Е. Ермаков, М.А. Уймин, В.И. Итин.. – № 2007139222/15; заяв. 22.10.2007; опубл. 10.06.2009, Бюл. № 16.

2. Способ комбинированного лечения рака желудка III стадии: пат. 2127591 РФ: МПК А61К31/28, А61N5/10 / С.А. Тузиков, Б.Н. Зырянов, С.А. Антипов, С.Г. Афанасьев, В.В. Карасева.; заявитель и патентообладатель НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН. – № 95121016/14; заяв. 30.11.1995; опубл. 20.03.1999.

3. Способ лечения диссеминированного и местно-распространенного рака желудка IV стадии: пат. 2370222 РФ: МПК А61В17/00 / С.А. Антипов Г.Ц. Дамбаев, В.В. Карасева, И.А. Хлусов, Т.А. Федущак, О.В. Жаркова – № 2007129407/14; заяв. 31.07.2007; опубл. 20.10.2009, Бюл. № 29.

4. Биотехнологический датчик: патент на полезную модель / И.А. Хлусов, Г.Ц. Дамбаев, Т.А. Федущак, А.Е. Ермаков, М.А. Уймин, С.А. Антипов; приоритетная справка № 2009123058 от. 16.06.2009.

5. Способ формирования арефлюксного эзофаго-гастраанастомоза при лечении рака желудка: пат. 2346661 РФ: МПК А61В17/11 / Г.Ц. Дамбаев, С.А. Антипов, А.С. Никулин, Е.Г. Дамбаева. – № 2007129405/14; заяв. 08.10.2007; опубл. 20.02.2009, Бюл. № 5.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ГО	– гемопоэтические островки
Гр	– Грэй
ДМСО	– диметилсульфоксид
ИОЛТ	– интраоперационная лучевая терапия
МэВ	– мегаэлектронвольт
ОКК	– общее количество кариоцитов
ОМО	– относительная масса опухоли
ПДК	– предельно допустимая(ые) концентрация(и)
ПП	– полоса поглощения
ТРО	– торможение роста опухоли
ФГДС	– фиброгастродуоденоскопия
ЭСР	– электронный(е) спектр(ы) поглощения
EORTC	– European Organization for Research and Treatment of Cancer

Подписано в печать 28.05.2010. Бумага офсетная. Формат 60x84¹/₁₆.
Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 2,0
Тираж 100 экз. Заказ № 226-10.

РИО НЦ РВХ СО РАМН
(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел 29–03–37. E-mail: arleon58@gmail.com)