

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА И. П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Тен

Олег Андреевич

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

14.01.12 – Онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Александр Анатольевич Захаренко

доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1 ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	14
1.1 Микрофлора толстой кишки и ее влияние на организм человека.....	14
1.2 Нарушение микрофлоры толстой кишки у пациентов с колоректальным раком.....	17
1.3 Клостридиальная инфекция.....	23
1.4 Способы коррекции дисбиоза толстой кишки.....	25
Глава 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	29
2.1 Дизайн исследования.....	29
2.2 Общая характеристика пациентов	33
2.3 Методика планирования радикального оперативного лечения. Технические аспекты хирургического лечения.....	37
2.4 Методика патоморфологического исследования	44
2.5 Методики оценки клинической эффективности	44
2.6 Характеристика пациентов группы сравнения.....	46
2.7 Характеристика основной группы больных	53
Глава 3 РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОЦЕНКИ РИСКА ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ДИСБИОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ	60
3.1 Характеристика микробиоты кишечника у больных группы сравнения в предоперационном периоде	60
3.2 Характеристика микробиоты толстой кишки у больных группы сравнения в послеоперационном периоде	65

3.3 Результаты лечения больных группы сравнения в раннем послеоперационном периоде.....	71
3.4 Разработка модели прогноза динамики дисбиоза толстой кишки у больных колоректальным раком	76
Глава 4 ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕДЛОЖЕННОГО ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА.....	85
4.1 Предоперационное состояние микрофлоры толстой кишки у больных основной группы и группы сравнения	85
4.2 Послеоперационное состояние микрофлоры толстой кишки у больных основной группы и группы сравнения	88
4.3 Анализ послеоперационных осложнений	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
ВЫВОДЫ	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	109
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	110
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	111

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Колоректальный рак (КРР) является 3-м в мире по распространенности и 2-м по смертности онкологическим заболеванием среди взрослого населения [20]. Причины развития данного заболевания мультифакториальны и включают в себя различные генетические и внешние факторы [12]. В настоящее время среди них особую роль отводят микроорганизмам. Согласно данным [72], около 15 % впервые зарегистрированных случаев онкологических заболеваний, в том числе и КРР, имели инфекционную этиологию. В этом аспекте все больший интерес представляет изучение микробиоценоза толстой кишки.

Микробиом, или микробиота, человека представляет собой совокупность всех микроорганизмов, существующих на поверхности эпителиальных покровов и в биологических жидкостях человеческого организма [26]. Под этими микроорганизмами подразумеваются различные виды бактерий, грибов, архей и вирусов, которые, обладая собственным метаболическим потенциалом, а также физиологическими и биохимическими характеристиками, оказывают существенное влияние на организм хозяина.

Особый клинический интерес представляет кишечная микробиота, которая активно участвует в широком спектре физиологических процессов, происходящих в просвете толстой кишки. Известно, что кишечная микрофлора предотвращает колонизацию толстого кишечника патогенными микроорганизмами, стимулируя выработку слизи и антимикробных агентов, укрепляя барьер между тканями кишечника и его полостью, участвуя в регуляции витальных процессов клеток кишечника [77]. Однако при нарушении бактериального баланса, вследствие внешних или внутренних факторов, может расти численность и разнообразие бактерий-патогенов, которые, производя генотоксичные соединения, супероксидные радикалы или стимулируя воспалительный ответ, могут приводить

к воспалительным явлениям и генетическим мутациям в эпителии ободочной кишки [3].

Кишечная микробиота представляет собой совокупность обитающих в просвете кишечника микроорганизмов. Она состоит из бактерий, грибов, простейших, вирусов и бактериофагов, общим числом более 10^{14} , живущих в симбиотических отношениях и оказывающих эпигенетическое влияние на организм хозяина.

На сегодняшний день представляется крайне важным изучение влияния кишечной микрофлоры на развитие и течение колоректального рака, а также изучение ее изменений в результате лечения заболевания. Известно о канцерогенных свойствах таких бактерий, как *E. coli*, *Streptococcus gallolyticus*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium spp.* (*F. nucleatum*, *F. mortiferum* и *F. necrophorum*), *Porphyromonas spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium septicum* и др. Помимо этого, описано стимулирующее влияние некоторых бактериальных штаммов, в том числе *Streptococcus gallolyticus*, *Clostridium septicum*, *Escherichia coli* на опухолевую прогрессию.

Есть данные о том, что иммуносупрессированные пациенты со злокачественными новообразованиями толстой кишки имеют более высокий, по сравнению с неонкологическими пациентами, риск развития инфекции, вызванной *Clostridium difficile* и *Clostridium septicum* [5, 28, 63], что может отрицательно сказываться не только на субъективном состоянии пациентов, но и на периоперационном течении заболевания, а также стать причиной приостановления курса системной полихимиотерапии вследствие развития тяжелой некорректируемой диареи.

Учитывая риск развития грозных послеоперационных осложнений у пациентов с колоректальным раком вследствие колонизации кишечника патогенными бактериями, необходима тщательная предоперационная подготовка толстой кишки. На сегодняшний день повсеместно используется механическая подготовка в комплексе с голоданием, однако оно может привести к избыточному росту патогенной микрофлоры, что особенно опасно в предоперационном периоде

[46]. Антибиотикопрофилактика, безусловно, доказала свою эффективность, однако она может быть причиной возникновения резистентности к антимикробным препаратам [16, 29].

Другим методом профилактики инфекционных послеоперационных осложнений у пациентов перед оперативным вмешательством на ободочной и прямой кишках является употребление пребиотиков [79], которые не только препятствуют колонизации толстой кишки патогенными бактериальными штаммами, но и имеют некоторое противоопухолевое действие. Известно об их антиоксидантном эффекте, снижающем повреждающее действие опухолевых свободных радикалов за счет активации процесса запланированной клеточной смерти клеток образования; за счет поддержания кислой среды в толстой кишке, что снижает ферментативную активность гнилостных бактерий толстой кишки [33, 43, 81].

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

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на усовершенствование хирургической тактики и техники, достижения анестезиологии и реаниматологии, появление современных антибактериальных препаратов, уровень послеоперационных осложнений и летальность у больных раком толстой кишки остаются достаточно высокими и достигают в различных центрах до 45 % [84]. Особенно обращают на себя внимание пациенты (до 29 % случаев) с развитием послеоперационной диареи (колита), ассоциированной с антибиотиками, клостридиальной инфекцией и или обусловленной другими причинами. Данные пациенты требуют незамедлительного лечения, иначе заболевание переходит в более тяжелые

формы, вплоть до фульминантного колита и токсической дилатации толстой кишки. Доказано, что большую роль в развитии послеоперационных осложнений играет состояние микрофлоры толстой кишки.

Цель исследования

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

Задачи исследования

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

Научная новизна исследования

В план предоперационного обследования включена методика исследования кала с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) («КОЛОНОФЛОР-16»). Проведено детальное изучение состояния микрофлоры толстой кишки у

пациентов с колоректальным раком в пред- и послеоперационном периодах. Подтвержден факт прогрессирования дисбиоза в послеоперационном периоде под влиянием определенных факторов, изучена их взаимосвязь. Разработана и предложена комплексная модель оценки риска прогрессирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде, имеющая высокую степень чувствительности и специфичности. Модель позволяет выявить пациентов с высоким риском прогрессирования толстокишечного дисбиоза в послеоперационном периоде, провести персонализированную коррекцию нарушений микрофлоры, что будет способствовать снижению частоты послеоперационных осложнений и улучшению качества жизни больных с колоректальным раком в отдаленном послеоперационном периоде.

Практическая значимость исследования

Разработанный ЛДА, который включает в себя исследование кала методом ПЦР в предоперационном периоде у больных колоректальным раком, позволяет более детально изучить состояние микрофлоры толстой кишки и степень толстокишечного дисбиоза, с последующим проведением персонализированной предоперационной коррекции. Изучение качественного и количественного состава микробиоты, а также комплексная модель оценки риска, в дополнение к общепринятым методам, позволяют прогнозировать динамику дисбиоза при отсутствии клинических проявлений в предоперационном периоде, снизить риск послеоперационных осложнений, индивидуализировать подход к выбору лечебной тактики.

Методология и методы исследования

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

Первый этап исследования характеризуется диагностической и клинической направленностью, основанной на дооперационной оценке состояния микрофлоры толстой кишки методом ПЦР у 163 больных, страдающих колоректальным раком T1-4N1-2M0, которым планировалось радикальное лечение. Предложен лечебно-диагностический алгоритм, основанный на предоперационной коррекции дисбиоза толстой кишки (ДТК) пациентам с высоким риском его прогрессирования, рассчитанным по разработанной комплексной модели. Оценена диагностическая значимость определения микрофлоры толстой кишки методом ПЦР. Данный метод более чувствителен, позволяет определить более широкий спектр бактерий, время ожидания результата значительно меньше по сравнению с таковым при бактериологическом посеве.

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

Основные положения, выносимые на защиту

1. У всех больных раком толстой кишки в предоперационном периоде имеются изменения микрофлоры толстой кишки различной степени выраженности.
2. Хирургическое вмешательство приводит к прогрессированию фонового дисбиоза толстой кишки у 100 % больных.
3. Неблагоприятными прогностическими факторами, способствующими прогрессированию дисбиоза толстой кишки, являются—локализация опухоли в правых отделах ободочной кишки, опухолевый стеноз, предоперационная антибактериальная терапия, применение слабительных, наличие фонового дисбиоза.
4. Предложенная модель оценки риска прогрессирования дисбиоза с использованием выделенных показателей обладает высокой степенью чувствительности, специфичности и диагностической точности.
5. Разработанный ЛДА обеспечивает персонализированный подход к коррекции нарушений толстокишечного микробиоценоза, снижает число послеоперационных осложнений и улучшает качество жизни больных с высоким риском прогрессирования кишечного дисбиоза.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена доказанностью методологии исследования; проведением исследования на практическом уровне; методами, адекватным целям и задачам исследования; использованием качественной и количественной оценки результатов; статистическим подтверждением значимости полученных данных; эффективным внедрением разработанного лечебно-диагностического алгоритма в практику

диагностики и хирургического лечения больных колоректальным раком. Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в выполнении 163 (77,3%) операций в группе сравнения и 48 (22,7%) операций - в основной группе. Исследователь лично участвовал в планировании и формировании научных гипотез, статистической обработке данных, обобщении и анализе результатов.

Апробация результатов исследования

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

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

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

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

– XI Международной конференции. Российская школа колоректальной хирургии «Лечебно-диагностический алгоритм периоперационной коррекции нарушений микробиоценоза толстой кишки у больных колоректальным раком» (Россия, Москва, 1–3 июня 2018 г.);

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

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

Внедрение результатов исследования

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

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из которых 7 – в реферируемых ВАК журналах. Получен 1 патент на изобретение (патент № 2664623 от 21.08.2018 г. «Способ прогнозирования прогрессирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде»).

Личный вклад автора

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

участвовал в планировании и формировании научных гипотез, статистической обработке данных, обобщении и анализе результатов исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Связь с планом научных исследований

Работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в рамках государственного задания «Периоперационные изменения кишечного микробиоценоза у больных раком толстой кишки».

Объем и структура диссертации

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

Глава 1

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Микрофлора толстой кишки и ее влияние на организм человека

Колоректальный рак (КРР) на сегодняшний день – 3-е в мире по распространенности и 2-е по смертности онкологическое заболевание среди взрослого населения [20]. Ежегодно выявляются миллионы новых случаев заболеваемости КРР [12, 72]. В России в последние годы колоректальный рак занимает 5-е место в общей структуре онкологической заболеваемости. Причины развития данного заболевания мультифакториальны и включают в себя различные факторы, приводящие к накоплению генетических мутаций и aberrаций ДНК [25]. Отсутствие высокочувствительных методик скрининга раннего КРР, а также стертость его симптомов являются причиной поздней диагностики данной группы заболеваний. И несмотря на тот факт, что в последние десятилетия произошел существенный прорыв в стратегии ведения пациентов со злокачественными новообразованиями толстой кишки, включающей в себя хирургическое лечение, молекулярно-таргетную терапию, полихимиотерапию, лучевую терапию [4], большая группа пациентов направляется на хирургический этап лечения, в том числе, в рамках комбинированного или комплексного лечения. Хирургическая тактика, в том числе выполнение комбинированных и расширенных хирургических вмешательств, даже при местно-распространенном и возможном метастатическом процессе [5, 63], имеет удовлетворительные отдаленные результаты. Однако высокий процент инфекционных осложнений раннего послеоперационного периода может стать причиной увеличения времени пребывания в стационаре, повторных оперативных вмешательств, а также повышения летальности.

Важную роль в канцерогенезе и развитии инфекционных осложнений отводят микрофлоре толстой кишки. Известно, что человек существует в тесной связи с огромным количеством микроорганизмов, обитающих на коже, слизистых, в ротовой полости, урогенитальном и гастроинтестинальном трактах. В результате длительного естественного отбора, который проходил на протяжении нескольких поколений, происходило взаимное приспособление бактерий окружающей среды и макроорганизма, вследствие чего образовалась единая экологическая система, которая является необходимым условием существования организма человека [36].

Кишечная микробиота играет важную роль во многих физиологических процессах. Это сложное скопление организмов обладает значительным метаболическим потенциалом, в основном за счет своей способности к разложению различных веществ. Сотни типов бактерий, обладающих различными физиологическими и биохимическими характеристиками, обитают в просвете толстого кишечника, в слое слизи и на поверхности эпителия. И несмотря на тот факт, что впервые бактерия, выделенная из кала, была исследована микроскопически Leeuwenhoek более 300 лет назад, лишь недавно исследователи стали обращать внимание на значительную многостороннюю роль кишечной микрофлоры.

Бактерии играют ключевую роль во многих процессах, происходящих в просвете толстой кишки, включая ферментацию протеинов и углеводов, трансформацию желчных кислот и жиров, метаболизм ксенобиотических субстанций, стимуляцию иммунного ответа, а также активацию и утилизацию мутагенных метаболитов. Результаты жизнедеятельности бактерий оказывают значительное влияние на организм хозяина во многих аспектах – анатомическом, физиологическом, биохимическом и генетическом [8].

Благодаря изобретению NGS-секвенирования стало возможным точное определение кишечной микробиоты как сложного сообщества микроорганизмов, обитающего в просвете кишечника и состоящего из бактерий, грибов, простейших, вирусов и бактериофагов, общим числом более 10^{14} . Оказывая

эпигенетическое влияние на организм хозяина, регулируя экспрессию генов, они могут влиять на развитие КРР, в особенности вкупе с такими факторами, как диета, образ жизни, наследственность. Более 99 % представителей микрофлоры кишечника являются бактериями, среди которых можно выделить 7 основных типов: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* (эти 2 типа являются доминирующими), *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Cyanobacteria* (так называемые субдоминантные типы) [14].

Микрофлора толстой кишки способствует развитию и регуляции работы иммунной системы (особенно местной), препятствуя колонизации толстого кишечника патогенными агентами. Помимо этого, кишечная микробиота стимулирует выработку слизи и антимикробных белков, укрепляя барьер между полостью и тканями кишечника, регулирует витальные процессы клеток кишечника (пролиферацию, рост, дифференцировку, выживание и гибель), контролирует ангиогенез в окружающих тканях и выполняет ряд других, необходимых функций [2, 7, 66, 80].

Состав микробиоты человека зависит от ряда факторов: наличия питательных веществ, рН, присутствия кислорода, воздействия лекарственных препаратов (антибиотики), секреции желчных кислот и пищеварительных ферментов, целостности слизистых оболочек и взаимодействия с иммунной системой хозяина [39]. В ситуациях, когда бактериальный баланс в толстом кишечнике нарушен вследствие различных внешних или внутренних факторов, количество и разнообразие патогенных бактерий увеличивается, что само по себе является основанием для развития воспалительных изменений кишечной стенки [60]. Таким образом, при нарушениях функционирования кишечной микрофлоры повышается риск развития значительного числа заболеваний (инфекционных, метаболических, аутоиммунных, онкологических, неврологических и эндокринных), в том числе колоректального рака [74].

1.2 Нарушение микрофлоры толстой кишки у пациентов с колоректальным раком

На протяжении многих лет исследователи старались установить связь микроорганизмов с развитием колоректального рака. Еще V. Aries в 1969 г. [11] и M. J. Hill в 1971 г. [47] рассматривали кишечную флору как этиологический фактор канцерогенеза.

На сегодняшний день в литературе описано множество исследований, указывающих на связь микрофлоры толстого кишечника с канцерогенезом, прогрессией и лечением КРР [8, 28, 46].

Существует мнение, что кишечные микроорганизмы, производя генотоксичные соединения, супероксидные радикалы, или стимулируя воспалительные ответы, которые приводят к мутации генов, способны запускать процесс онкогенеза в эпителии толстого кишечника [49]. Одной из первых бактерий, связанной с КРР, была кишечная палочка (*E.coli*). Имеются данные, согласно которым, у 90 % больных раком толстой кишки и у 93 % пациентов с аденоматозными полипами отмечается повышенная бактериальная плотность *E. coli* в биопленке толстой кишки по сравнению со здоровыми людьми [52]. Также известно, что *E. Coli* избыточно представлена в кишечной микробиоте пациентов, страдающих от воспалительных заболеваний кишечника [73]. *E. coli* плотно сцепляется с кишечной стенкой, вызывая ее поражение, что является частой причиной массивной диарреи [13].

В 2014 г. M. Bonnet [19] представил результаты исследования микрофлоры толстой кишки у пациентов с аденокарциномой толстого кишечника. Все пациенты, вошедшие в группу, были радикально прооперированы. Производился забор участков слизистой толстой кишки из зоны опухолевого поражения и на расстоянии 10 см от образования. Образцы оценивали молекулярно-биологическим исследованием методом ПЦР, а также при помощи электронной микроскопии. Результаты исследования показали, что в участке толстой кишки, пораженном опухолью, обсемененность кишечной палочкой была значительно выше, чем в зоне интактной слизистой.

В экспериментальном исследовании [43] на мышинной модели канцерогенное действие *E. Coli* было обусловлено экспрессией штамма бактерии *rks*-островка патогенности, кодирующего токсин-колибактин. Этот токсин приводит к нарушению сумоилирования p53 и стимуляции клеточного старения, характеризующегося продукцией провоспалительных факторов и факторов роста с *tumor*-промотерной активностью.

Еще в 1977 г. R. S. Klein et al. [53] представили данные, согласно которым, *Streptococcus gallolyticus* (ранее – *S. Bovi*, биотип I), являющийся по определению патогенным микроорганизмом для человека, вызывает бактериемию, эндокардит и инфекции мочевыводящих путей, а также связан с развитием КРР. Однако остается неясным, инициирует ли процесс онкогенеза *S. gallolyticus* путем внедрения через нарушенный барьер слизистой оболочки толстой кишки, или бактерия лишь оказывает фоновое воздействие на процесс канцерогенеза. *S. gallolyticus*, по сравнению с другими членами *S. Bovis*, обладает фимбриевым белком, с коллаген-связывающим доменом, который демонстрирует рост преимущественно при метаболических нарушениях, связанных с опухолями толстой кишки, может эффективно транслоцироваться через парацеллюлярный эпителиальный маршрут, а также он связан с увеличенным воспалительным сигналом, в том числе ЦОГ-2 [9, 35].

В 2013 г. A. Voleij, H. Tjalsma [18] опубликовали метаанализ на основе шести независимых исследований (общее число пациентов – 340), продемонстрировав, что у пациентов с большой бактериальной нагрузкой *S. Gallolyticus* (биотип I) имелся более высокий риск развития новообразования толстой кишки, в сравнении с пациентами, у которых был отмечен усиленный рост других видов *S. bovi*. Однако основным недостатком представленных результатов было то, что исследователи не производили разделение *S. bovi* на биотипы. Таким образом, несмотря на тот факт, что *S. Gallolyticus*-инфекция может являться, по своей сути, индикатором развития колоректального рака, необходим более детальный анализ других подвидов, для

исключения/подтверждения их возможной связи с патологическими изменениями желудочно-кишечного тракта.

Имеется мнение о связи процесса онкогенеза в толстокишечном эпителии с энтеротоксигенной *Bacteroides fragilis* (ЕТВФ). В 2006 г. N. Ulger Toprak et al. [76] представили данные исследования, в котором производилось выделение энтеротоксигенных штаммов *B. Fragilis* (ЕТВФ) из фекалий пациентов с КРР. Методом бактериологического посева производилось культивирование бактерий. После этого при помощи осаждения этанолом и повторного суспендирования в воде из культивированных колоний *B. Fragilis* выделяли ДНК, с его последующим ПЦР-анализом. По результатам исследования было выявлено, что у пациентов с КРР процент выявления штамма ЕТВФ значительно выше, чем в контрольной группе: 28,8 и 8,5 % соответственно.

Некоторыми исследователями было отмечено снижение бактериального разнообразия, увеличение количества грамотрицательных бактерий рода *Fusobacterium* и *Porphyromonas*, относящихся к провоспалительным бактериям в просвете толстой кишки у пациентов с КРР [17, 54].

В частности, *Fusobacterium*, анаэробные грамотрицательные бактерии, зачастую являются причиной формирования воспалительных очагов ротовой полости, а также на фоне текущего воспаления и опухолевого поражения могут колонизировать толстокишечный эпителий [45, 55]. Связь между этими бактериями и КРР была впервые выявлена при помощи РНК-секвенирования, когда при сравнении микробного состава тканей злокачественного новообразования и интактных участков толстой кишки одного хозяина было выявлено значительное преобладание видов *Fusobacterium* (преимущественно флотипы *F. nucleatum*, *F. mortiferum* и *F. necrophorum*) в участках опухолевого поражения по сравнению со здоровыми участками кишечной стенки [69]. Опубликованное в 2012 г. исследование А. D. Kostic [56] с использованием 16S рДНК-последовательности и флуоресцентной гибридизации продемонстрировало сходные результаты. Работа, J. Ahn et al., вышедшая в 2013 г. [10], еще раз подтвердила ассоциацию опухоли с *Fusobacterium SPP*. Была предложена

гипотеза, согласно которой, *F. nucleatum*, рекрутируя миелоидные клетки опухолевой промоции, может обладать проканцерогенным эффектом, вызывать хеморезистентность, регулировать аутофагию. Эта бактерия способна ингибировать НК-клетки и Т-клеточную активность через связывание их Fab2-протеинов с TIGIT-ингибирующими рецепторами, активируя таким образом бета-катерин\Wnt-сигнальный путь канцерогенеза в кишечном эпителии (через связь его FadA адгезина к E-катерину) [10, 55, 69, 84].

В 2013 г. А. N. McCoy et al. [64] отметили связь бактерий рода *Fusobacterium* с развитием КРР. При сопоставлении групп исследуемых было выявлено, что в образцах кала пациентов со злокачественным новообразованием толстой кишки *Fusobacteria* присутствует в значительно большем количестве по сравнению с пациентами с аденомой толстой кишки и со здоровыми людьми. Авторы предложили использовать *Fusobacterium* в качестве потенциального биомаркера колоректального канцерогенеза. А факт повышенной экспрессии гена *Fad A*, наблюдаемой в толстокишечном эпителии у лиц с выявленной колоректальной карциномой, указывает на возможность использования *Fad A* в качестве диагностического показателя и терапевтического таргета [44].

Обнаружено, что фузобактерии свойственны биопленке ткани аденокарциномы восходящей ободочной кишки [69]. Колонии этих бактерий продуцируют полиаминовые метаболиты N1-, N12-диацетилспермины, способные усиливать клеточную пролиферацию, уменьшать экспрессию E-катерина и активировать STAT 3 и ИЛ-6 [32].

Кроме того, *Fusobacterium* и ассоциированные с ними бактерии могут быть выявлены в отдаленных метастазах КРР. Помимо этого, в соответствии с результатами эксперимента, опубликованными в 2017 г. S. Bullman [21], рост этих бактерий определялся даже после нескольких последовательных «подсадок» опухолевых ксенографтов иммуносупрессированным мышам, а получение последними антибиотиков, направленных на подавление роста этих бактерий, приводило к уменьшению бактериальной нагрузки, клеточной пролиферации и опухолевого роста.

N. Wu et al. в 2013 г. [83] провели сравнительное исследование микрофлоры толстой кишки пациентов с КРР и здоровых людей. Авторами не было обнаружено значимых различий между образцами для большинства из бактерий, за исключением *Fusobacteria*, которая содержалась в значительно большем количестве в фекалиях пациентов со злокачественными новообразованиями толстой кишки. Также в группе пациентов с КРР отмечалась более высокая бактериальная нагрузка *Eubacteriaceae*, *Clostridiales*, *Staphylococcaceae* и *Enterococcaceae* в сравнении с контрольной группой здоровых людей.

Некоторые ученые утверждают, что возникновению колоректального рака способствуют метаболиты, продуцируемые в кишечнике бактериями. В 2008 г. R. Balamurugan et al. [15] опубликовали результаты исследования в кале *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii* (бутиратпродуцирующие бактерии), а также *Desulfovibrio* (сульфат-редуцирующие бактерии) и *Enterococcus faecalis* (производят внеклеточный супероксид), указав на токсичное действие сульфида водорода и свободных радикалов кислорода на толстокишечный эпителий и на обратное действие бутирата на слизистую толстой кишки.

Считалось, что штаммы *Enterococcus faecalis* продуцируют внеклеточные супероксиданионы, которые вызывают повреждение ДНК, повышая риск развития КРР. В 2013 г. N. Wu et al. [23] опубликовали результаты исследования структуры микрофлоры толстого кишечника у пациентов с КРР и здоровых добровольцев. После многофакторного анализа авторы исключили связь супероксид-продуцирующей *E. faecalis* с развитием крупных аденом толстой кишки или КРР и пришли к заключению, что структурный дисбаланс микрофлоры толстой кишки, который теоретически может запускать процесс онкогенеза, представлен сокращением бактерий-производителей бутирата и увеличением оппортунистических микроорганизмов-патогенов. Также имеется мнение, что изменение состава микрофлоры, связанное с хроническим воспалением, ведет к увеличению риска возникновению КРР [33, 46, 47]. В 2012 г. J. H. Chang et al. [23] исследовали изменения микрофлоры толстой кишки у пациентов с КРР, не выявив значимых изменений в участках с опухолевой

инвазией и без. Однако исследователи отметили низкое бактериальное разнообразие – рост грамположительных бактерий, в частности, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, был ниже в зоне роста опухоли, нагрузка грамотрицательных бактерий, таких как *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* и *Mogibacterium*, была повышена в области опухолевого роста в сравнении с интактной тканью пациента. Указанные различия были статистически значимы по сравнению с контрольной группой здоровых людей.

В отечественной литературе исследование микрофлоры толстой кишки у больных с КРР выполнялось преимущественно бактериологическим методом. Т. Ю. Привалова и др. (2007) [6] исследовали микрофлору у пациентов с КРР пожилого и старческого возраста. Выявлены глубокие микробиологические нарушения, характеризующиеся интенсивной пролиферацией условно-патогенной флоры, дефицитом лакто-, бифидобактерий, щелочным рН фекалий, процессами эксудативного воспаления в слизистой толстой кишки. В. И. Жуков и др. (2010) [3] в своей работе указывают на выраженное развитие дисбактериоза кишечника у больных КРР. На фоне нарушения процессов превращения углеводов, жиров, белков и накопления токсичных продуктов обмена, что является важным активатором патогенеза активации, индукции, пролиферации и метоплазии опухолевой ткани, происходит ингибирование защитной функции и активация условно-патогенной микрофлоры. По мнению авторов, накопление биогенных аминов (метиламина, серотонина и гистамина) является ведущим метаболическим показателем нарушения микробиоценоза при КРР. По данным показателям возможно оценивать эффективность и адекватность лечения, а также выявлять группы риска среди населения. Исследование З. А. Афанасьева и др. (2012) [1] показало, что изменение состава микрофлоры у больных КРР не зависело от стадии заболевания. Авторы предположили, что одним из пусковых механизмов колоректального канцерогенеза первоначально являются дисбиотические изменения микрофлоры толстой кишки. Вследствие интоксикации от поступающих в кровь метаболитов опухоли снижается иммунная защита организма, угнетается нормальная микрофлора кишки, снижается уровень

бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки. Это, в свою очередь, еще больше снижает иммунную реактивность организма и способствует прогрессированию опухолевого процесса. На фоне снижения популяций нормальной микрофлоры возрастает численность условно-патогенной микрофлоры.

Ведется множество исследований и споров о том, являются ли изменения состава микрофлоры толстой кишки и (или) изменение соотношения концентрации каких-либо микроорганизмов причиной, либо следствием рака толстой кишки. Однако эти исследования показывают, что у всех пациентов с КРР наблюдается то или иное проявление дисбиоза, которое проявляется либо снижением анаэробной микрофлоры, либо увеличением условно-патогенных бактерий.

1.3 Клостридиальная инфекция

На настоящий момент клостридиальная инфекция представляет большую проблему у пациентов с колоректальным раком. Кишечная инфекция, вызванная *C. Difficile*, является одной из основных причин антибиотик-ассоциированной диареи. Иммуноскомпрометированные пациенты со злокачественным новообразованием имеют более высокий риск инфекционного поражения, вызванного этой бактерией, по сравнению с неонкологическими пациентами [25, 27].

Выделяют нетоксигенные и токсигенные штаммы *C. difficile*. Последние выделяют экзотоксины – TcdA и TcdB, вызывающие воспалительные и другие изменения толстокишечного эпителия. По данным многочисленных исследований, пациенты с местно-распространенной опухолью и (или) с наличием метастатически пораженных лимфоузлов имеют повышенный риск колонизации опухолевой ткани токсигенными штаммами *C. Difficile* [37, 46]. Большинство пациентов данной группы являются кандидатами на проведение химиотерапии, при проведении которой происходит интенсивное размножение клостридиальной

инфекции, способное вызвать тяжелую диарею, по причине которой курс химиотерапии может быть приостановлен [41].

Особый интерес представляют *Clostridium septicum* – грамположительные спорообразующие анаэробные бактерии, которые в норме могут находиться в желудочно-кишечном тракте. Однако, вследствие воспаления или изъязвления слизистой толстой и прямой кишки, эти бактерии могут транслоцироваться, вызывая бактериэмию, газовую гангрену и мионекроз [37]. С *C. septicum* чаще бывают ассоциированы местно-распространенные новообразования: на фоне выраженной опухолевой инвазии, изъязвления слизистой формируется канал для бактериальной транслокации и распространения инфекции [37, 46]. Чаще всего *C. septicum* выявляется в слепой кишке, что, вероятно, связано с подходящей для роста данной бактерии более кислой средой, по сравнению с другими отделами ободочной кишки [24].

На настоящий момент не доказана способность *C. Septicum* инициировать процесс онкогенеза; однако было обнаружено, что они состоят в симбиотических отношениях с уже развивающейся злокачественной опухолью [46]. Возможность спорообразования бактерий *C. septicum*, которая в любом случае приводит к распространению бактерий, стимулируется недостатком кислорода и некротическими процессами в зоне опухоли. По мере усиления роста микроорганизмов происходит выброс их альфа-токсина, который, воздействуя на слизистую толстой кишки, приводит к ее изъязвлению, что, в свою очередь, дает возможность для гематогенного распространения бактерий [51]. Альфа-токсин, некротизирующий спорообразующий цитолизин, запускает процесс клеточной смерти через разрушение клеточной мембраны и нарушение митохондриальной регуляции. Также он приводит к тромбоцитопении и гемолизу, которые могут стать причиной кровотечения из опухолевой ткани. При гистологическом исследовании мышечной некротизированной ткани вследствие воздействия на нее *C. septicum* можно обнаружить, что ткань крайне обеднена лейкоцитами. Причиной этому является способность альфа-токсина селективно запускать апоптоз нейтрофилов, снижая, таким образом, иммунный ответ [42]. Данный

механизм не только создает благоприятные условия для роста колоний бактерий, но и оказывает влияние на опухолевую прогрессию, так как, в зависимости от опухолевого микроокружения, гранулоциты могут иметь опухолевую и противоопухолевую активность [30]. Возможно, что нейтрофилы, обладающие противоопухолевой активностью, например, N1-опухоль-ассоциированные нейтрофилы, теряют опухолевую супрессорную активность вследствие альфа-токсин-индуцированного апоптоза. Вследствие воздействия данного токсина лишенное лейкоцитов микроокружение опухоли исключает возможность модулирующего воздействия иммунной системы на пролиферирующие злокачественные опухолевые клетки [65].

1.4 Способы коррекции дисбиоза толстой кишки

В клинической практике современного колоректального хирурга механическая подготовка кишечника перед операцией по поводу колоректального рака становится важнейшим этапом всей предоперационной подготовки пациента, несмотря на то, что после подобной подготовки не отмечается статистически значимого снижения летальности и частоты осложнений [31, 38]. Известно, что кишка содержит огромное количество бактерий и продуктов их жизнедеятельности, которые могут оказывать выраженное негативное воздействие на исход лечения пациента, а также на функциональную способность кишки (ее эндокринную, барьерную, всасывающую функции) [16]. Кроме того, голодание в предоперационном периоде в комплексе с механической очисткой кишечника может стимулировать избыточный рост потенциально патогенных бактерий, что может привести к нарушению бактериального баланса, воспалению и изъязвлению кишечной стенки и, как следствие, к транслокации бактерий [31].

Профилактика нозокомиальных инфекций путем введения антибиотиков, безусловно, доказала свою эффективность, выявив, однако, некоторые сомнения относительно резистентности к антибиотикам [81]. Имеется другой подход к ингибированию воспалительных изменений и, как следствие, бактериальной

транслокации – совместное использование пробиотиков и пребиотиков, которое препятствует колонизации кишки патогенными штаммами [40]. Считается, что пробиотики – живые микроорганизмы, которые при применении в умеренном количестве оказывают положительный эффект на здоровье хозяина [71].

Список положительных эффектов, причисляемых пробиотическим бактериям, постоянно растет. С их помощью можно корректировать проявление симптомов лактозной недостаточности, снижать холестерин в крови; они способны корректировать запор, диарею, облегчать течение вагинита. Помимо этого, известно об их противоопухолевом эффекте применительно к опухолям колоректальной локализации [23]. В пищевой промышленности на сегодняшний день наиболее популярными пробиотиками являются лактобактерии и бифидобактерии.

Воспалительные и канцерогенные раздражители вызывают изменения в составе кишечной микробиоты, которые, в свою очередь, могут создавать условия, предрасполагающие к онкогенезу. На сегодняшний день крайне многообещающей представляется возможность облегчения течения колоректального рака через воздействие на человеческую микробиоту селективными пробиотиками.

В некоторых исследованиях на экспериментальных животных моделях была изучена роль лактобактерий в предотвращении развития колоректального рака [59, 85, 86].

В этих исследованиях ретроспективно на крысиной модели была продемонстрирована протективная функция *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus salivarius* при предраковых состояниях и развитии колоректального рака. В другом исследовании, результаты которого были в 2015 г. опубликованы Н. А. Lee [36], на мышинной модели было продемонстрировано, что после химической индукции опухоли толстой кишки (при помощи Азоксиметана и декстрана сульфата натрия) введение специфического штамма *Lactobacterium plantarum* способно ингибировать опухолевый рост.

Также некоторые исследователи, докладывая о своих результатах, заявляли, что поддержание внутри просвета толстой кишки низкого уровня водородного

показателя приводит к снижению пролиферации и активности гнилостных канцерогенных бактериальных энзимов. В соответствии с этими данными, J. N. Chang et al. [23] в своем экспериментальном исследовании на крысиной модели доказал уменьшение популяции канцерогенных кишечных бактерий, снижая внутрипросветный рН введением высоких доз *L. acidophilus* в течение 10 недель.

Среди различных доступных штаммов пробиотиков, используемых в клинической работе, специфичные лактобактерии и бифидобактерии положительно себя зарекомендовали по причине своей самостоятельной противоопухолевой активности и модулирующей роли в продукции цитокинов дендритными клетками человека [34, 58].

В исследовании [43], также выполненном на мышинной модели, было продемонстрировано, что *Lactobacillus*, введенное животному, регулировало экспрессию Toll-like4-, Toll-like9- и, особенно, Toll-like2-рецепторов, стимулируя, таким образом, запуск соответствующих сигнальных путей, что, в свою очередь, снизило заболеваемость мышей и в целом уменьшило объем опухоли.

Как известно, при злокачественных заболеваниях наблюдается снижение явлений апоптоза. Механизм апоптоза сложен и требует запуска нескольких сигнальных путей. В 2016 г. Y. Gamallat et al. [43] в своем исследовании показали, что профилактическое применение особого штамма *L. rhamnosus* может снижать заболеваемость в целом и число опухолей ободочной кишки, активируя процесс запланированной клеточной смерти и ингибируя воспаление. Имеется мнение, что особенно важно делать выбор в пользу продуцирующих молочную кислоту бактерий, вследствие их способности производить антиоксидантные ферменты, снижающие повреждающее воздействие опухолевых свободных радикалов на клетки. Авторы [78] указывают, что лучший противоопухолевый эффект может быть достигнут комбинацией лактобактерий, при помощи которой запускаются различные противовоспалительные механизмы и стимуляция продукции ИЛ-10 на мышинной модели КРР. В другом исследовании J. Rafter et al. [67], проведенном также на мышах, была продемонстрирована возможность модулировать

супрессию опухолевых энзимов через пероральный прием пробиотиков. Была продемонстрирована способность *L. rhamnosus* и *L. acidophilus* подавлять рост аберрантных скоплений желез в эпителии толстой кишки, а также значительное снижение уровня различных опухолевых биомаркеров и генотоксичного воздействия образования (за счет ИЛ-2 и INF-гамма), достигнутое пероральным приемом комбинации *L. rhamnosus* и *B. Breve*.

В 2015 г. Kotzampassi [57] в своей работе описал статистически значимое снижение частоты основных послеоперационных осложнений у пациентов, прошедших курс приема пребиотиков в рамках предоперационной подготовки, в сравнении с плацебо-группой (28,6 против 48,8 %, $p=0,010$, $OR=0,42$).

Подобные результаты описывает и другая исследовательская группа [48]. Кроме того, Matjaž Horvat et al. [62] в своем исследовании продемонстрировали, что и время пребывания в стационаре пациентов, получавших пребиотики, было статистически меньше, чем в группе больных, проходивших предоперационную подготовку только механической очисткой кишечника.

На сегодняшний день очевидна крайне важная роль микробиоты как в процессе канцерогенеза, развития и течения колоректального рака, так и в периоперационном периоде. Кроме того, большой интерес представляет применение бактерии в качестве новой таргетной цели консервативной терапии. Помимо этого, крайне важной представляется подготовка кишечника в предоперационном периоде с целью избежать возникновения тяжелых послеоперационных осложнений. Безусловно, дополнительного исследования требуют вопросы предоперационной подготовки толстого кишечника, приема пребиотиков, в том числе и в возможной комбинации с антибиотиками. С учетом набирающего во всем мире популярности персонализированного подхода к лечению, особенно актуальным представляется выявление группы риска развития дисбиозов с разработкой профилактических мероприятий против развития дисбаланса кишечной микрофлоры.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Исследование включало в себя следующие этапы.

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

II этап. Статистический анализ результатов ПЦР-диагностики кала больных ГС с целью выявления «неблагоприятных» факторов, достоверно связанных с прогрессированием нарушений микробиоценоза толстой кишки, с последующим построением комплексной модели на основе логистического регрессионного анализа.

III этап. Разработка лечебно-диагностического алгоритма, основанного на оценке риска прогрессирования ДТК по разработанной формуле. Проспективный набор пациентов основной группы (ОГ), лечение которых проводилось по предложенному ЛДА.

IV этап. Исключение из ГС пациентов с низким риском прогрессирования толстокишечного дисбиоза, ретроспективно оцененного по предложенной формуле, однородной с ОГ по полу, возрасту, локализации и распространенности опухолевого процесса и объему операции. Оценка эффективности предложенного

лечебно-диагностического алгоритма путем сравнения результатов лечения ГС и ОГ. Дизайн исследования показан на рисунке 2.1.

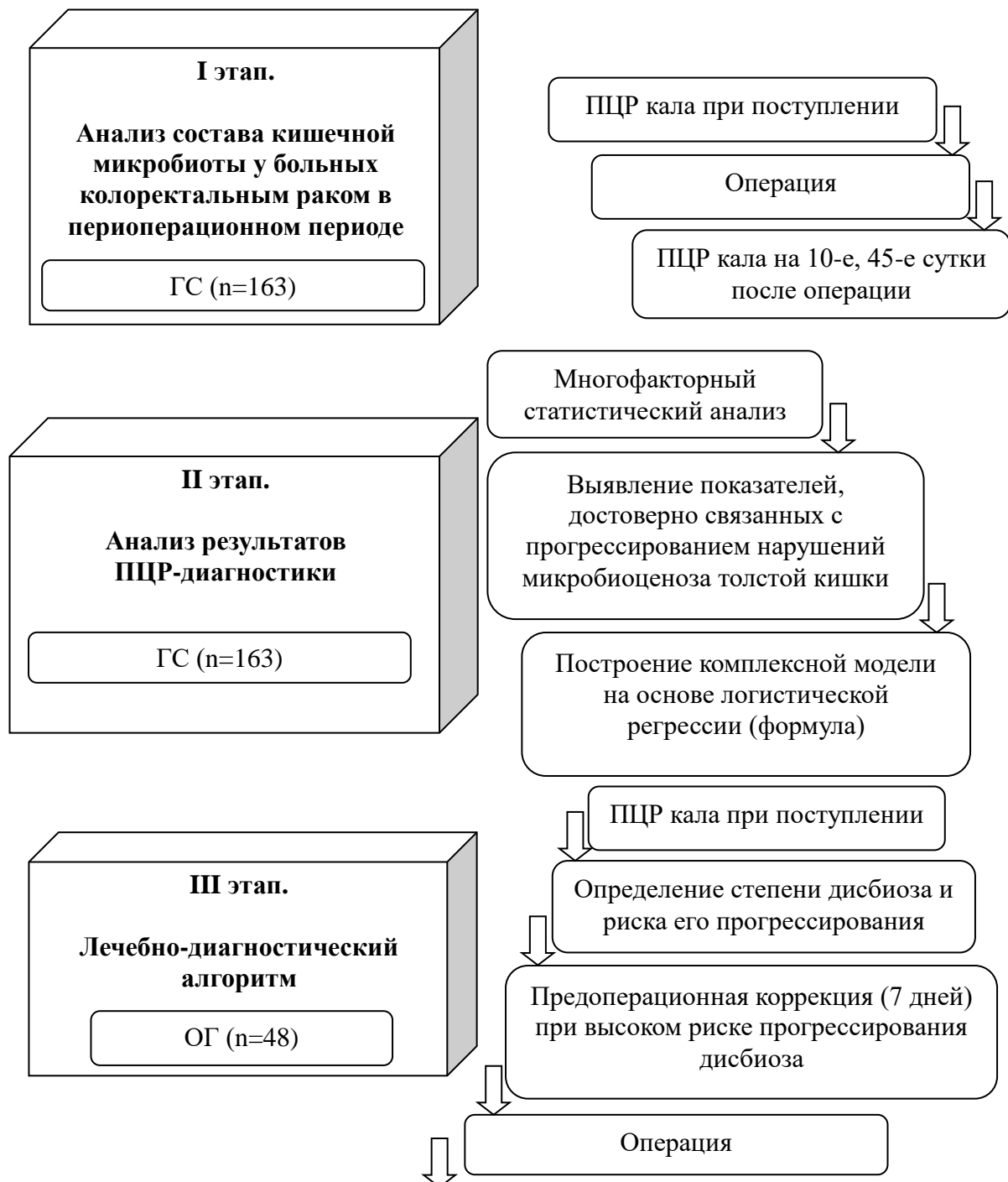




Рисунок 2.1 – Дизайн исследования

В исследование были включены 211 пациентов, страдающих колоректальным раком (I–III стадии): группа сравнения – 163 пациента, основная группа – 48 пациентов. Всем пациентам при поступлении выполнен анализ кала методом ПЦР («КОЛОНОФЛОР-16») с целью оценки исходного состояния микрофлоры толстой кишки. После оценки исходного состава микробиоценоза толстой кишки больным ГС проведено оперативное лечение. На 10-е и 45-е сутки после операции проводили повторное исследование кала («КОЛОНОФЛОР-16»). Проведен многофакторный статистический анализ полученных результатов с целью выявления различных факторов, способных изменять состав микрофлоры толстой кишки. Все полученные данные проанализированы с использованием компьютерной системы «Statistica for Windows» (версия 10.0.1011.6, StatSoft, Inc., 2011). Сравнение параметров в группах исследования проведены с помощью критериев Манна – Уитни, Колмогорова – Смирнова, медианного, хи-квадрат (χ^2) и модуля ANOVA. Оценка частот выполнена с помощью критериев χ^2 , Пирсона, Фишера. При выявлении показателей (факторов), достоверно связанных с прогрессированием нарушений микробиоценоза толстой кишки, построена комплексная модель на основе логистического регрессионного анализа.

С учетом полученных результатов предложен ЛДА, основанный на предоперационной коррекции ДТК у больных высокого риска, определенного по разработанной формуле.

Основную группу (n=48) составили пациенты с высоким риском прогрессирования дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде,

пролеченные по разработанному ЛДА. Пациентам данной группы проведена предоперационная коррекция ДТК.

Предложенная модель оценки риска прогрессирования ДТК ретроспективно применена ко всем пациентам группы сравнения. Риск развития ДТК был высоким у 51 пациента, которые соответствовали ОГ по полу, возрасту, коморбидности, локализации опухоли и объему оперативного вмешательства.

При сравнении данных с ГС оценивали послеоперационные осложнения, длительность послеоперационного лечения, качество жизни, динамику нормализации кишечной микробиоты по результатам ПЦР кала.

Распределение пациентов, подвергшихся статистическому анализу, показано на рисунке 2.2.

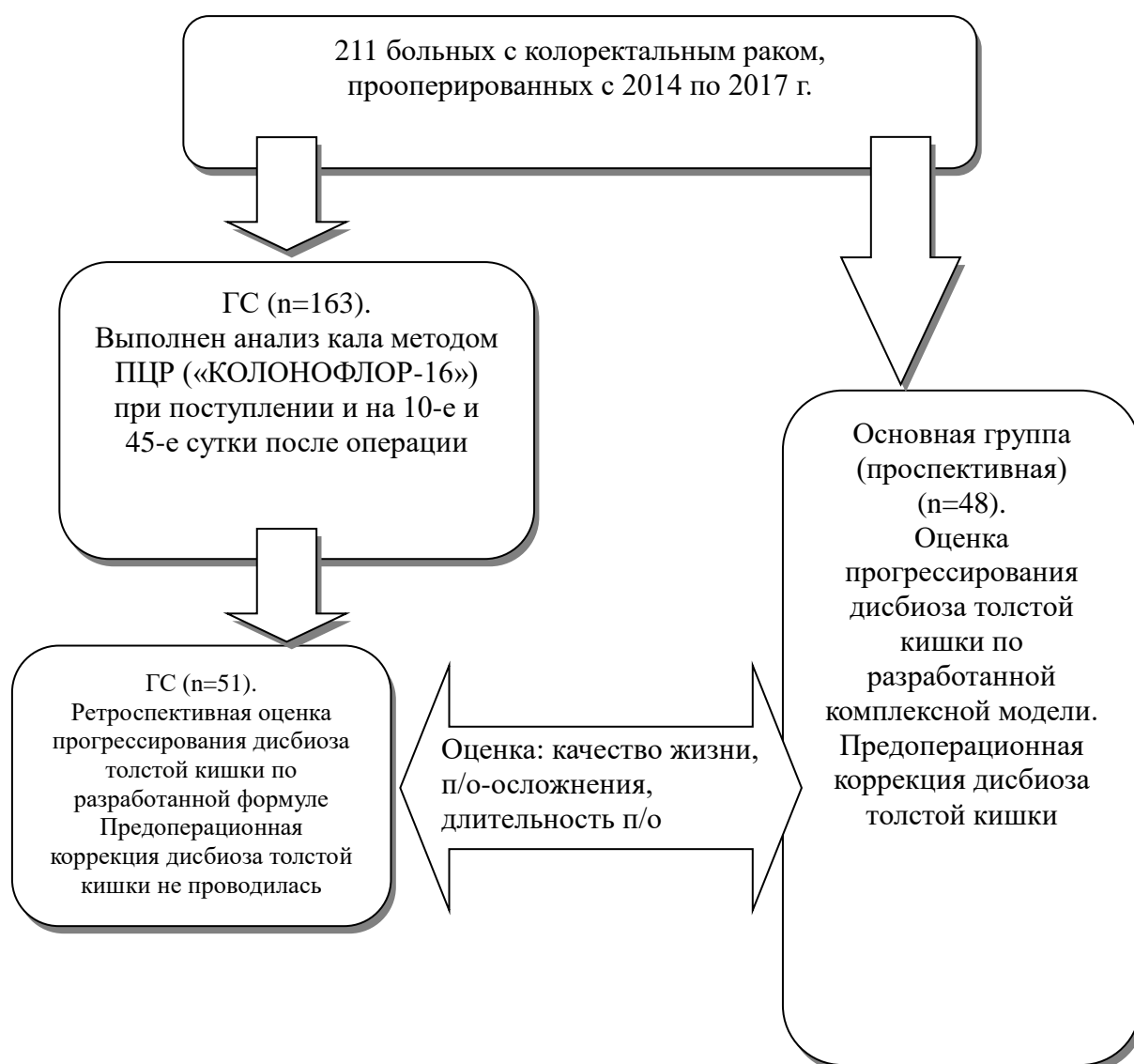


Рисунок 2.2 – Исследуемые группы пациентов

2.2 Общая характеристика пациентов

В исследование были включены 211 пациентов с гистологически подтвержденным раком ободочной кишки и верхнеампулярного отдела прямой кишки, проходивших лечение в онкологическом отделении № 1 НИИ хирургии и неотложной медицины ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в период с 2014 по 2017 г. Критерии невключения: наличие отдаленных метастазов (M1), неoadъювантная химиотерапия, наличие хронических воспалительных заболеваний толстой кишки, открытый доступ оперативного вмешательства.

Обследование и лечение больных выполняли согласно Национальным клиническим рекомендациям онкологов России (АОР, 2011 г.) и рекомендациям Российского общества клинической онкологии РФ (RUSSCO, 2013 г.). На дооперационном этапе выполняли сбор анамнеза, жалоб, физикальное исследование пациента с пальпаторным исследованием периферических лимфоузлов и ректальным осмотром.

Лабораторная диагностика включала в себя развернутые клинический и биохимические анализы крови, общий анализ мочи, исследование свертывающей системы крови, а также онкомаркеров (РЭА, СА-19-9). Исследования крови проводили на анализаторах «AVL 9130» (Австрия), «CLIMA MC-15» (Испания), «BTS 305» (Испания). Инструментальные методы обследования:

- электрокардиография (аппарат Fukuda Cardiomax FX-3010, Япония);
- видеоэзофагогастродуоденоскопия (ВЭГДС) (процессор Olympus EVIS EXERA II, аппарат Olympus GIF-Q180, Япония);

– тотальная видеоколоноскопия (ВКС) (процессор Olympus CF-V701, Япония) с биопсией (с целью визуализации опухоли, оценки размеров опухоли, определения локализации и макроскопического типа опухоли, оценки угрозы осложнений (кровотечение, стеноз, риск перфорации), получения материала для морфологического исследования). В каждом случае применяли многофокусную биопсию. Забирали от 3 до 8 биоптатов. Количество биоптатов зависело от макроскопической формы опухоли, степени выраженности некротического и воспалительного процессов. У всех больных опухоль выявлена при ВКС, диагноз гистологически верифицирован до оперативного вмешательства;

– ирригоскопия (АРЦ-«ОКО» НИПК «Электрон», Россия) – при стенозе опухоли и невозможности выполнить тотальную колоноскопию, с целью исключить синхронные образования толстой кишки;

– мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) (на аппарате GE Optima 660, США) брюшной полости с контрастированием, с целью оценки границ опухоли, связи с соседними органами, исключения отдаленного метастазирования, а также оценки регионарных лимфоузлов;

– мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) (на аппарате GE Optima 660, США) грудной клетки для исключения метастазов в легких и лимфоузлах средостения;

– МРТ (на аппарате «GE Signa HDxt», США) с внутривенным контрастированием и многофазным сканированием брюшной полости, при наличии противопоказаний к введению йодсодержащих контрастных препаратов.

Также проводили оценку функционального статуса по показаниям с целью подготовки к хирургическому лечению, которая включала в себя эхокардиографию (Эхо-КГ), холтеровское суточное мониторирование сердечной деятельности, оценку функции внешнего дыхания, ультразвуковую доплерографию сосудов (УЗДГ) сосудов шеи и нижних конечностей, консультации специалистов.

Помимо стандартного лабораторно-инструментального набора исследований, необходимого для лечебно-диагностических мероприятий при

колоректальном раке, выполняли забор кала с целью исследования микробиоты толстой кишки методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией в реальном времени «КОЛОНОФЛОР-16».

Анализ выполняли за 10 суток до операции и на 10-е и 45-е сутки после операции.

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

Контейнер с материалом доставлялся в лабораторию и хранился до начала исследования при температуре 2–8 °С. Время от взятия материала до начала исследования не превышало 24 ч.

Использовали метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением набора реагентов «КОЛОНОФЛОР-16», который включает в себя смесь для ПЦР-амплификации, специфичную для ДНК всех бактерий (общая бактериальная масса); смеси для амплификации, специфичные для каждого выявляемого вида (или группы) бактерий (перечень выявляемых микроорганизмов приведен в таблице 2.1).

Таблица 2.1 – Перечень выявляемых микроорганизмов, состав стрипов и каналы детекции результатов амплификации

«КОЛОНОФЛОР-16»			
Номер пробирки в стрипе	Название смеси для амплификации		Цвет буфера
	FAM	HEX	
Стрип 1			
1	Общая бактериальная масса		Голубой
2	<i>Lactobacillus spp.</i>		Бесцветный
3	<i>Bifidobacterium spp.</i>		Бесцветный

4	<i>Escherichia coli</i>		Бесцветный
5	<i>Bacteroides fragilis group</i>		Бесцветный
6	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>		Бесцветный
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Бесцветный
8	<i>Candida spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Бесцветный
Стрип 2			
1	<i>Escherichia coli</i> <i>enteropathogenic</i>		Голубой
2	<i>Enterococcus spp.</i>		Бесцветный
3	<i>Bacteroides</i> <i>thetaiotaomicron</i>		Бесцветный
4	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	Бесцветный

Окончание таблицы 2.1

Номер пробирки в стрипе	Название смеси для амплификации	Цвет буфера
5	<i>Proteus spp.</i>	Бесцветный
6	<i>Enterobacter spp.</i> / <i>Citrobacter spp.</i>	Бесцветный
7	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Бесцветный
8	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Shigella spp.</i> Бесцветный

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

I степень: снижение общего количества основных представителей микрофлоры (бактероиды, бифидо- и лактобактерии) до 10^7 – 10^8 КОЕ/г, уменьшение количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью до 10^6 КОЕ/г, снижение количества условно-патогенных энтеробактерий, золотистых стафилококков, грибов рода *Candida* до 10^3 КОЕ/г.

II степень: снижение количества основных представителей кишечной микрофлоры до 10^5 КОЕ/г, увеличение количества лактозонегативной кишечной палочки до 10^4 – 10^5 КОЕ/г на фоне уменьшения количества их нормальных форм, повышение количества условно-патогенных энтеробактерий, золотистых стафилококков, грибов рода *Candida* до 10^4 КОЕ/г.

III степень: снижение количества основных представителей микрофлоры до 10^3 – 10^4 КОЕ/г; отсутствие эшерихий с нормальной ферментативной активностью на фоне повышения числа их неполноценных штаммов, повышение уровня условно-патогенных энтеробактерий, золотистых стафилококков, грибов рода *Candida* до 10^4 КОЕ/г.

IV степень: отсутствие основных представителей анаэробной микрофлоры, отсутствие эшерихий с нормальной ферментативной активностью, подавляющее превосходство условно-патогенных энтеробактерий, золотистых стафилококков, грибов рода *Candida* и их ассоциаций более 10^8 КОЕ/г.

2.3 Методика планирования радикального оперативного лечения.

Технические аспекты хирургического лечения

После проведенного дооперационного обследования всем больным устанавливали стадию заболевания на основании рекомендаций Международного противоракового союза (UICC) и Американского Совместного комитета по раку (AJCC), сформулированных в 7-й редакции TNM-классификации (2009–2010 гг.). Проводили мультидисциплинарный консилиум с участием хирурга, химиотерапевта, радиолога, эндоскописта, анестезиолога, с целью оценки функционального состояния больного и определения дальнейшей тактики лечения (выбор объема оперативного вмешательства).

Предоперационная подготовка кишечника включала в себя бесшлаковую диету в течение 7 суток перед операцией. Очистительные клизмы выполняли пациентам со стенозирующей опухолью (просвет непроходим для колоноскопа в комплексе с клинической картиной субкомпенсированных нарушений кишечной проходимости). При наличии признаков паратуморозного инфильтрата проводили предоперационную антибактериальную терапию. Всем больным проводили антибиотикопрофилактику согласно Приказу № 720 от 15.12.2014 г. «Инструкция о применении антимикробных лекарственных средств для первичной профилактики инфекций в области хирургического вмешательства в клинике ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России». Внутривенное

введение дозы антибиотика Цефуроксим 1,5 г + Метронидазол 0,5 г за 30–40 мин до операции. Дополнительные 2–3 дозы вводятся в течение 24 ч после операции внутривенно.

Все пациенты были прооперированы лапароскопическим доступом. Выбор оперативного вмешательства зависел от локализации опухолевого процесса.

При определении объема лимфодиссекции (ЛД) использовали Японскую классификацию лимфатических узлов (ЛУ) ободочной и прямой кишки (Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum, 2010 г.), в которой выделяют следующие основные группы лимфатических узлов (рисунок 2.3).

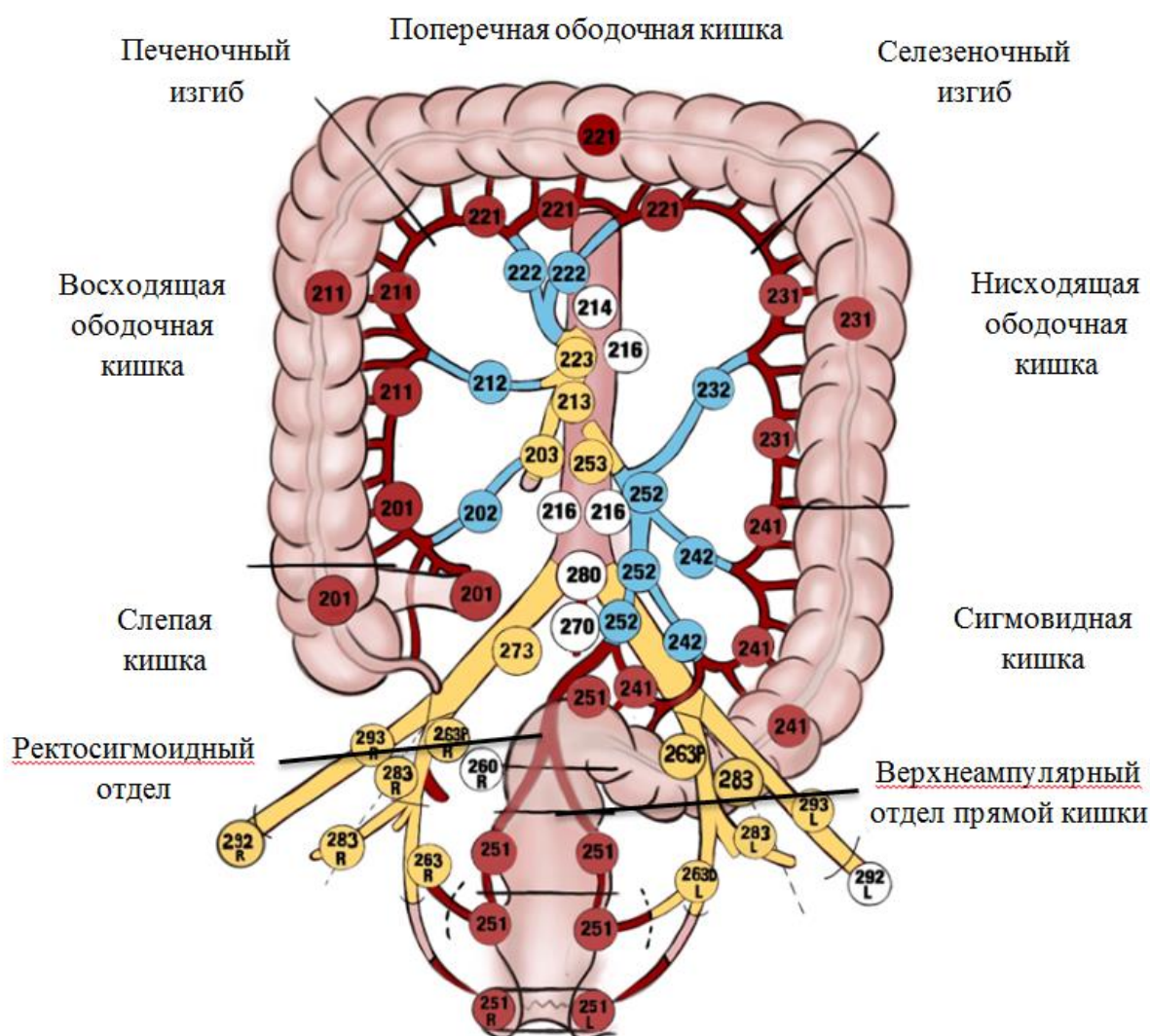


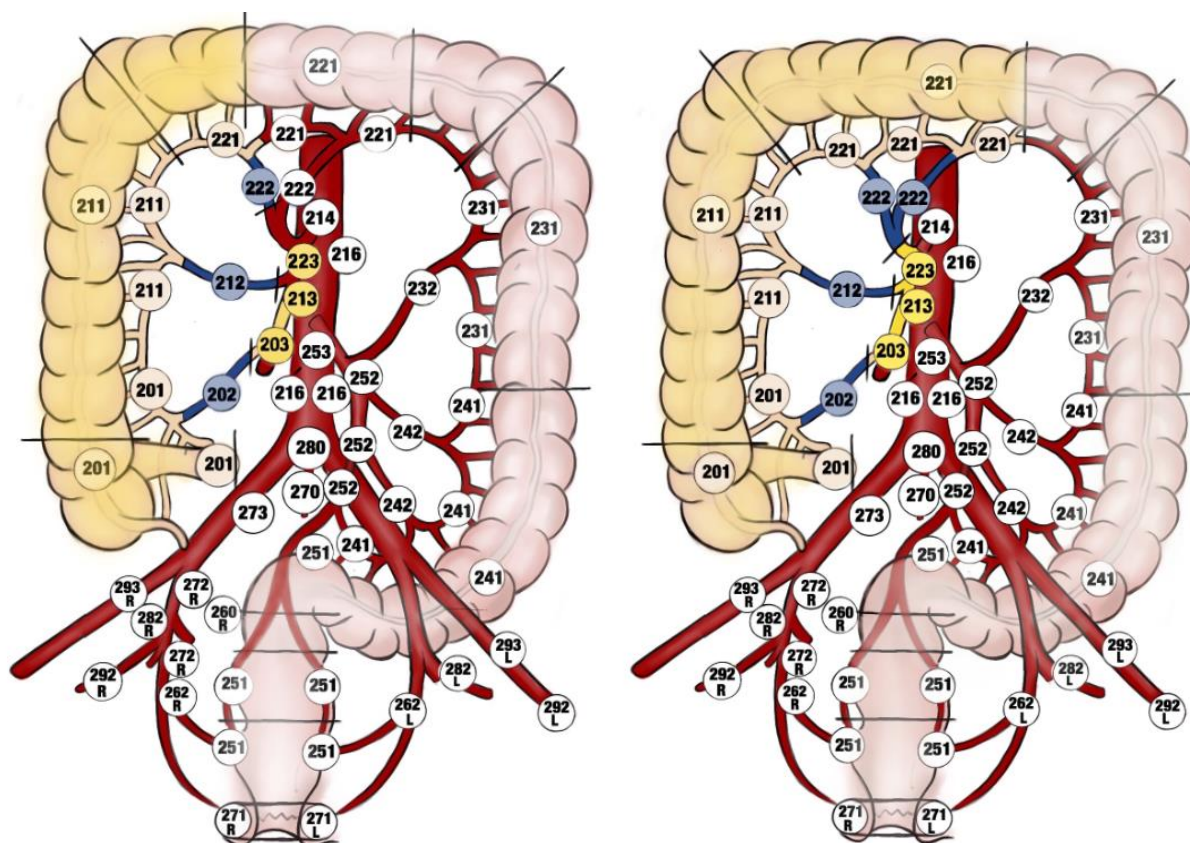
Рисунок 2.3 – Анатомические зоны толстой кишки. Классификация и нумерация лимфоузлов толстой кишки. Эпиколические: 201 – *a. iliocolica*; 211 – *a. colica dextra*; 221 – *a. colica media* (правая и левая ветви); 231 – *a. colica sinistra*;

241 – *aa. sigmoideae* (241-1 – первая сигмовидная артерия, 241-2 – вторая сигмовидная артерия, 241-t – терминальная сигмовидная артерия); 251 – *a. rectalis superior*. Мезоколические: 202 – вдоль *a. iliocolica*; 212 – вдоль *a. colica dextra*; 222-rt – вдоль правой *a. colica media*; 222-lt – вдоль левой *a. colica media*; 232 – вдоль *a. colica sinistra*; 242-1 – вдоль первой *a. sigmoidea*; 242-2 – вдоль второй *a. sigmoidea*; 252 – вдоль *a. rectalis superior*. Апикальные: 203 – у основания *a. iliocolica*; 213 – у основания *a. colica dextra*; 223 – у основания *a. colica media*; 253 – *a. mesenterica inferior*. Лимфоузлы, расположенные проксимальнее апикальных: 214 – вдоль *a. mesenterica superior*; 216 – парааортальные ЛУ

При локализации опухоли в слепой и восходящей ободочной кишке выполняли правостороннюю гемиколэктомию. При помощи электрохирургического коагулятора FORCE TRIAD, а также ультразвукового скальпеля HARMONIC выделяли, клипировали и пересекали подвздошно-ободочные, правые ободочных сосуды, а также правые ветви средних ободочных сосудов. Выполняли мезоколэктомию в медиально-латеральном направлении. Стандартно проводили D2 ЛД, в которую входит удаление мезоколической группы ЛУ 202-й и 212-й, а также эпиколических и параколических групп ЛУ 201-й, 211-й, 222-й и части 221-й группы. В случае выявления пораженных апикальных ЛУ при компьютерной томографии или интраоперационно объем расширяли до D3 ЛД, в который входит удаление ЛУ данной группы (203 и 213). С помощью аппарата LigaSure пересекали брыжейку поперечной ободочной и тонкой кишки. После мобилизации правого фланга толстой кишки определяли границы резекции. Проксимальная граница резекции – подвздошная кишка в 10–15 см от илеоцекального угла, дистальная граница – проксимальная или средняя треть поперечной ободочной кишки. После пересечения кишки сшивающими линейными-режущими аппаратами NTLC 75 формировали илеотрансверзоанастомоз, либо двухрядным непрерывным швом нитью PDS 3/0, либо с использованием линейно-режущих сшивающих аппаратов NTLC 75.

При локализации опухоли в печеночном изгибе ободочной кишки выполняли расширенную правостороннюю гемиколэктомию. Помимо

пересечения подвздошно-ободочных и правых ободочных сосудов, производили клипирование и пересечение средних ободочных сосудов. Объем ЛД дополнялся удалением 221-й и 222-й групп ЛУ при D2 ЛД и 223-й группы ЛУ при D3. Дистальную границу резекции расширяли до дистальной трети поперечной ободочной кишки (рисунок 2.4).



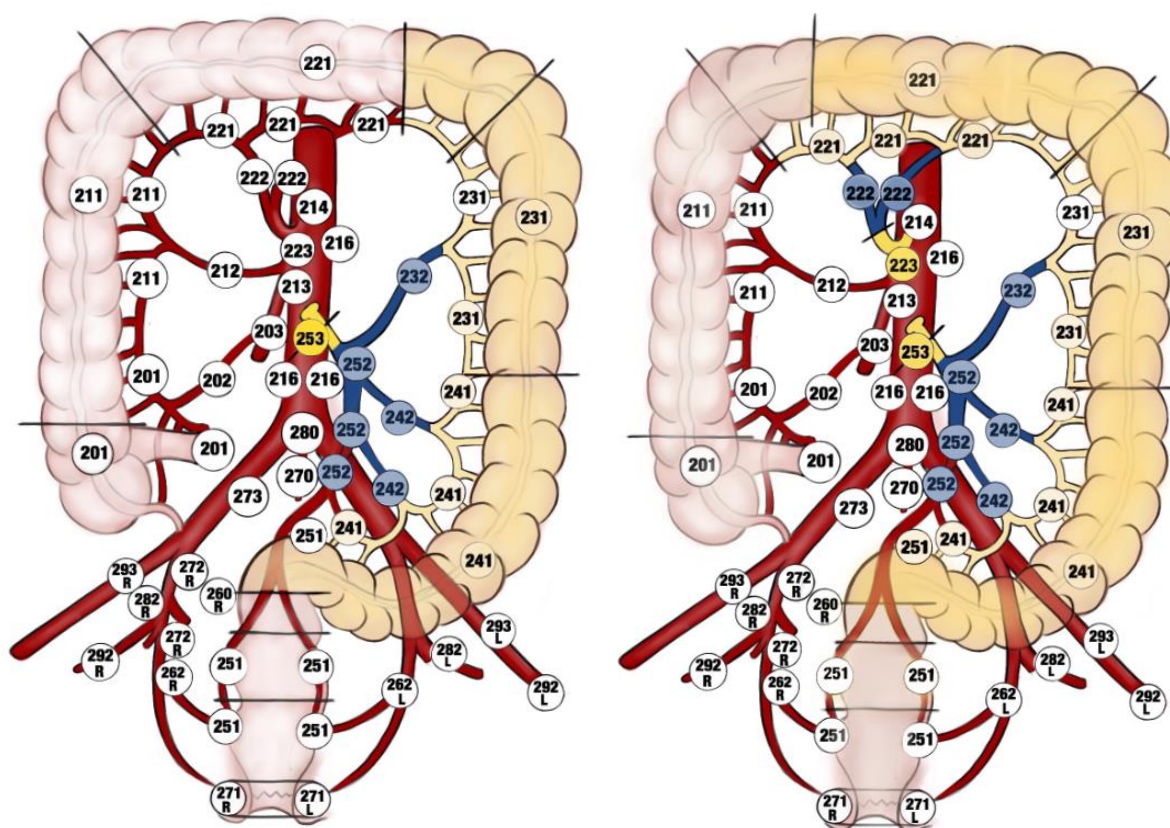
a

б

Рисунок 2.4 – Объем операции при опухолях правого фланга толстой кишки: *a* – правосторонняя гемиколэктомия; *б* – расширенная правосторонняя гемиколэктомия

При локализации опухоли в нисходящей ободочной кишке, проксимальной и средней трети сигмовидной кишки выполняли левостороннюю гемиколэктомию. При оперативном вмешательстве пересекали нижние брыжеечные сосуды с ЛД

эпиколических и параколических 231-й и 241-й групп, а также 232-й, 242-й, 252-й мезоколических групп ЛУ при D2 ЛД. При D3 ЛД удалялась апикальная группа ЛУ 253. Проксимальная граница резекции – поперечная ободочная кишка, дистальная граница – ректосигмоидный отдел. При локализации опухоли в селезеночном изгибе ободочной кишки, дистальной части поперечной ободочной кишки выполняли расширенную левостороннюю гемиколэктомию. Проксимальная граница расширялась до проксимальной трети поперечной ободочной кишки, тем самым выполнялось лигирование средних ободочных сосудов с ЛД 221-й и 222-й групп ЛУ при D2. В объеме D3 ЛД дополнительно удаляли ЛУ 223-й группы. При наличии долихосигмы лигирование выполняли на уровне отхождения левых ободочных сосудов, дистальной границей намечалась сигмовидная кишка на уровне адекватного кровоснабжения. Формирование трансверзоректоанастомоза либо трансверзосигмоанастомоза выполняли преимущественно двухрядным непрерывным швом нитью PDS 3/0, а также при помощи линейно-режущих сшивающих аппаратов NTLC 75 и циркулярно-сшивающего аппарата ETHICON CDH 29. При наличии признаков толстокишечной непроходимости операцию заканчивали формированием колостомы (рисунок 2.5).



а

б

Рисунок 2.5 – Объем операции при опухолях левого фланга толстой кишки:

а – левосторонняя гемиколэктомия;

б – расширенная левосторонняя гемиколэктомия

При локализации опухоли в средней, дистальной трети сигмовидной кишки выполняли резекцию сигмовидной кишки. Пересекали нижние брыжеечные сосуды, при лимфодиссекции D2 удаляли ЛУ 241-й, 242-й, 252-й групп, а при D3 объем лимфодиссекции расширялся до 253-й группы ЛУ. Проксимальная граница резекции – нисходящая ободочная кишка, дистальная граница – ректосигмоидный отдел. Формирование десцендоректоанастомоза проводили преимущественно при помощи циркулярно-сшивающего аппарата ETHICON CDH 29, а также линейно-режущих сшивающих аппаратов NTLC 75 и ручным двухрядным непрерывным швом нитью PDS 3/0. При наличии противопоказаний к формированию анастомоза оперативное вмешательство заканчивали формированием колостомы (рисунок 2.6).

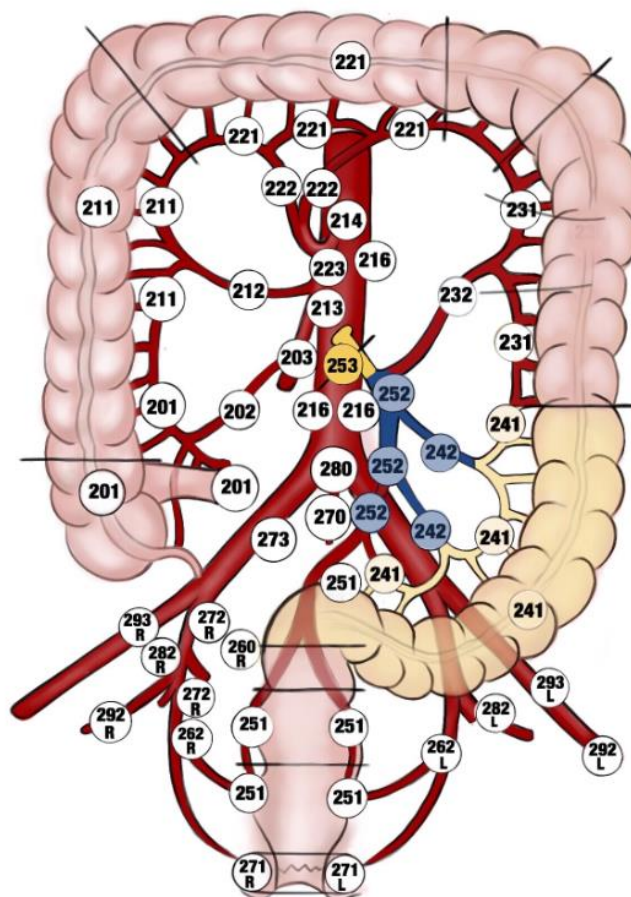


Рисунок 2.6 – Объем операции при опухоли сигмовидной кишки

При локализации опухоли в ректосигмоидном отделе и верхнеампулярном отделе прямой кишки выполняли переднюю резекцию прямой кишки. Проводили лимфодиссекцию ЛУ 252-й группы, с пересечением нижнебрыжеечной артерии (дистальнее отхождения левой ободочной артерии) и нижнебрыжеечной вены. Мезоколэктомия в медиально-латеральном направлении, удаляли ЛУ 242-й, 241-й групп. Частичная мезоректумэктомия (до средней – нижней трети прямой кишки) с лимфодиссекцией 251-й группы лимфоузлов. Формировали толсто-толстокишечный анастомоз при помощи циркулярного сшивающего аппарата ETHICON CDH29. Оперативное вмешательство заканчивали формированием превентивной (двуствольной) трансверзостомы (рисунок 2.7).

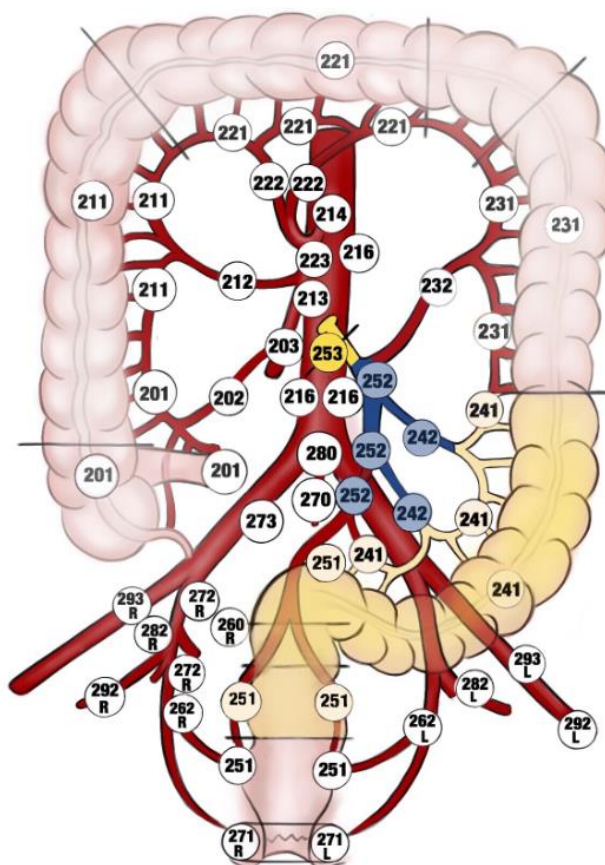


Рисунок 2.7 – Объем операции
при опухоли верхнеампулярного отдела прямой кишки

2.4 Методика патоморфологического исследования

После выполненных операций проводили оценку удаленного материала. Измеряли длину резецируемого участка кишки, площадь брыжейки, расстояние от места перевязки магистральной артерии до стенки кишки, расстояние от места перевязки магистральной артерии до опухоли. Проводили забор линий резекции (проксимальной и дистальной), выделение не менее 12 ЛУ. Вскрывали просвет кишки (по противоположной от опухоли стенке), проводили промывку препарата. Оценивали размеры опухоли (длина, ширина, с указанием поперечного размера кишки). Препарат и ЛУ фиксировали в 10 %-м растворе формалина и направляли на гистологическое исследование для определения патоморфологической стадии опухолевого процесса по классификации TNM в 7-й редакции (2009).

Микроскопическому исследованию подвергали серийные и ступенчатые срезы. Гистологическое исследование производили при помощи окрасок гематоксилина и эозина, ШИК-реакции по Мак – Манусу на нейтральные глюкозаминогликаны, пикрофуксином по ван Гизону, а также альциановым синим по Стивдену.

2.5 Методики оценки клинической эффективности

Послеоперационное лечение больных проводили согласно стандартам ПСПБГМУ им. И. П. Павлова. Для систематизации возникших осложнений использовали классификацию хирургических осложнений Clavien – Dindo. Осложнения лечили по требованиям внутренних стандартов ПСПБГМУ им. И. П. Павлова. Все данные пациента (основные параметры, послеоперационное течение, информация о возникновении осложнений и нежелательных явлений) заносили в индивидуальную регистрационную карту исследуемого (таблица 2.2).

Таблица 2.2 – Классификация хирургических осложнений по классификации Clavien – Dindo

Степень	Характеристика
I	Любые отклонения от нормального послеоперационного течения, не требующие медикаментозного лечения или хирургического, эндоскопического, радиологического вмешательства. Разрешается терапевтическое лечение: антипиретики, анальгетики, диуретики, электролиты, физиотерапия. Сюда же относится лечение раневой инфекции
II	Требуется лечение в виде гемотрансфузии, энтерального или парентерального питания.

Ш:	Требуется хирургическое, эндоскопическое или радиологическое вмешательство:
Ша	вмешательство без общего обезболивания
Шб	вмешательство под общим обезболиванием
IV	Жизнеугрожающие осложнения (включая осложнения со стороны ЦНС*: геморрагический инсульт, ишемический инсульт, субарахноидальное кровоотечение, за исключением транзиторной ишемической атаки), требующие интенсивной терапии, наблюдения в отделении реанимации, резекции органа
Iva	Недостаточность одного органа
IVb	Полиорганная недостаточность
V	Смерть больного

* ЦНС – центральная нервная система.

Для оценки качества жизни использовали русскоязычную версию опросника, разработанной «EORTC group» при Европейской организации лечения и исследования рака (European Organization for Research and Treatment Cancer) – EORTC QLQ-C30 v. 3.0. А также дополнительно использовали специальный модуль для больных колоректальным раком EORTC QLQ-CR29 v. 2.1. Данные опросники содержат симптоматическую и функциональную шкалы. При оценке симптоматической шкалы меньшее число баллов соответствовало лучшему качеству жизни, при оценке функциональной шкалы – наоборот. Все пациенты проходили тестирование за сутки до оперативного вмешательства, на 45-е сутки после оперативного вмешательства.

2.6 Характеристика пациентов группы сравнения

В ГС включены 163 пациента, которые получали лечение в онкологическом отделении № 1 НИИ хирургии и неотложной медицины ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в период с 2014 по 2017 г.

Критерии включения пациентов в группу сравнения:

- гистологически верифицированный рак толстой кишки T1-4 N0-2 M0;
- радикальное оперативное вмешательство по поводу рака толстой кишки лапароскопическим доступом.

Критерии невключения пациентов в ГС:

- хронические воспалительные заболевания толстой кишки;
- отдаленные метастазы;
- неoadъювантное лечение;

Критериями исключения:

- конверсия во время лапароскопической операции.

Все пациенты были информированы о цели и объеме предстоящего исследования. Каждым больным было подписано информированное согласие.

Женщин оказалось больше, чем мужчин (102 и 61 соответственно), преобладали больные пожилого возраста (61,3 %).

Распределение больных ГС по полу и возрасту приведено в таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Распределение пациентов группы сравнения по возрасту и полу

Возраст, лет	Пол	Группа сравнения (n=163)			
		абс.		%	
45–59	М	17	37	10,4	22,7
	Ж	20		12,3	
60–76	М	36	100	22,1	61,3
	Ж	64		39,2	
75–90	М	8	26	4,9	16,0
	Ж	18		11,1	

У всех пациентов опухоль выявлена при видеокколоноскопии, диагноз гистологически верифицирован до оперативного вмешательства. Высокодифференцированная аденокарцинома диагностирована у 33 (20,3 %) пациентов, умеренно дифференцированная аденокарцинома – у 113 (69,3 %), низкодифференцированная аденокарцинома – у 17 (10,4 %) больных (рисунок 2.8).



Рисунок 2.8 – Распределение пациентов группы сравнения по гистологической форме опухоли

Согласно дополнительным методам обследования, а также заключениям врачей-консультантов, практически у всех больных ГС (более 90 %) в анамнезе имелась сопутствующая и фоновая патология различной степени тяжести. Преимущественно это были гипертоническая болезнь и ишемическая болезнь сердца (таблица 2.4).

Таблица 2.4 – Характер сопутствующих заболеваний у больных группы сравнения

Диагноз	Число больных, n (%)
---------	----------------------

	мужчины	женщины	всего
Гипертоническая болезнь	46 (28,2)	39 (23,9)	85 (52,1)
Ишемическая болезнь сердца	41 (25,2)	30 (18,4)	71 (43,6)
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	2 (1,2)	1 (0,6)	3 (1,8)
Язвенная болезнь желудка	1 (0,6)	0 (0)	1 (0,6)
Желчнокаменная болезнь	6 (3,7)	9 (5,5)	15 (9,2)
Бронхиальная астма	3 (1,8)	5 (3,1)	8 (4,9)
Хроническая обструктивная болезнь легких	9 (5,5)	3 (1,8)	12 (7,3)
Мочекаменная болезнь	8 (4,9)	5 (3,1)	13 (6,2)
Сахарный диабет II типа	7 (4,3)	14 (8,6)	21 (12,9)
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	4 (2,5)	15 (9,2)	19 (11,7)
Прочие	37 (22,7)	51 (31,3)	88 (54,0)

Общее состояние больных ГС оценивали по шкалам ECOG и Карновского (таблица 2.5). У большинства пациентов ГС отсутствовали тяжелые хронические заболевания, была сохранена работоспособность и социальная активность.

Таблица 2.5 – Распределение пациентов группы сравнения по шкале ECOG и индексу Карновского

ECOG, баллы	Шкала Карновского, % активности	Число больных, n (%)		Всего, n (%)
		мужчин	женщин	

0	90–100	23 (14,1)	28 (17,2)	51 (31,3)
1	70–80	31 (19,0)	68 (41,7)	99 (60,7)
2	50–60	7 (4,3)	6 (3,7)	13 (8,0)
3	30–40	0	0	0
4	10–20	0	0	0

У 39 (23,9 %) больных в анамнезе имелись оперативные вмешательства на органах брюшной полости и малого таза. Виды и частота ранее выполненных операций приведены в таблице 2.6.

Таблица 2.6 – Виды перенесенных ранее операций у пациентов группы сравнения

Вид операции	Абс.	%
Резекция яичника	2	1,2
Надвлагалищная ампутация матки	5	3,1
Холецистэктомия	6	3,7
Аппендэктомия	26	15,9
Всего	39	23,9

Все больные были разделены по клиническим стадиям на основании классификации TNM в 7-й редакции (2009) (таблица 2.7). Стадии I и II (клинически) определялись у 24 (14,7 %) и 26 (16,0 %) больных соответственно. Преобладали пациенты с III стадией заболевания – 109 (66,9 %).

Таблица 2.7 – Распределение больных группы сравнения по стадиям рака толстой и прямой кишки сTNM

Стадия заболевания	TNM 7 (AJCC)	Абс.	%

0	TisN0M0	0	0
I	T1N0M0	0	0
	T2N0M0	24	14,7
IIA	T3N0M0	15	9,2
IIВ	T4aN0M0	9	5,5
IIС	T4bN0M0	2	1,2
IIIA	T1N1M0	0	0
	T2N1M0	41	25,2
	T1N2aM0	3	1,8
IIIB	T3N1M0	49	30,2
	T4aN1M0	15	9,2
	T2N2aM0	0	0
	T3N2aM0	1	0,6
	T1N2bM0	0	0
	T2N2bM0	0	0
IIIC	T4aN2aM0	0	0
	T3N2bM0	0	0
	T4aN2bM0	0	0
	T4bN1M0	3	1,8
	T4bN2M0	1	0,6
Всего		163	100

Опухоль чаще локализовалась в слепой кишке и верхнеампулярном отделе прямой кишки (таблица 2.8).

Таблица 2.8 – Локализация опухоли у пациентов группы сравнения

Локализация опухоли	Абс.	%
Слепая кишка	30	18,4
Восходящая ободочная кишка	13	8,0
Печеночный изгиб	17	10,4
Поперечная ободочная кишка	8	4,9
Селезеночный изгиб	10	6,2

Нисходящая ободочная кишка	7	4,3
Сигмовидная кишка	17	10,4
Ректосигмоидный отдел	23	14,1
Прямая кишка (верхнеампулярный отдел)	38	23,3
Всего	163	100

Осложнение основного заболевания диагностировано у 34 (20,9 %) больных. У 16 (9,8 %) опухоль стенозировала просвет кишки (просвет непроходим для колоноскопа в комплексе с клинической картиной субкомпенсированных нарушений кишечной проходимости). Данным пациентам назначалась жидкая диета и очистительные клизмы. У 22 (13,5 %) имелись признаки паратуморозного инфильтрата, в связи с чем проводили предоперационную антибактериальную терапию. Кровотечение из опухоли наблюдалось в 3 (1,8 %) случаях. У 7 (4,3 %) пациентов наблюдалось сочетание субкомпенсированного опухолевого стеноза и наличие паратуморозного инфильтрата.

Предоперационная подготовка кишечника включала в себя бесшлаковую диету в течение 7 суток перед операцией. Пациентам с опухолями прямой кишки – очистительные клизмы вечером накануне операции. Слабительные применены у 11 (6,7 %) больных.

Все пациенты были прооперированы в плановом порядке (таблица 2.9). Оперативные вмешательства стандартного объема проведены лапароскопическим доступом. Оперативные вмешательства в объеме передней резекции прямой кишки с частичной мезоректумэктомией сопровождалось обязательным выведением привентивной трансверзостомы.

Всем больным проводили антибиотикопрофилактику. Стандартная схема: внутривенное введение дозы антибиотика Цефутоксим 1,5 г + Метронидазол 0,5 г за 30–40 мин до операции. Дополнительные 2–3 дозы вводятся в течение 24 ч после операции внутривенно. В связи с развившимися осложнениями 35 (21,5 %) пациентам продолжена антибактериальная терапия до 7 суток.

Таблица 2.9 – Распределение пациентов группы сравнения по видам оперативных вмешательств (n=163)

Вид оперативного вмешательства	Абс.	%
Правосторонняя гемиколэктомия	43	26,4
Расширенная правосторонняя гемиколэктомия	19	11,6
Левосторонняя гемиколэктомия	7	4,3
Расширенная левосторонняя гемиколэктомия	16	9,8
Резекция сигмовидной кишки	27	16,6
Передняя резекция прямой кишки	51	31,3
Всего	163	100

Для оценки эффективности предложенного ЛДА, в основе которого лежит предоперационная коррекция ДТК у больных высокого риска его прогрессирования по разработанной формуле, из ГС исключены пациенты низкого риска прогрессирования ДТК. Ретроспективно сформирована группа сравнения (n=51). Согласно разработанному ЛДА, данным пациентам было показано проведение предоперационной коррекции нарушений состава микрофлоры толстой кишки.

2.7 Характеристика основной группы больных

В основную группу проспективно включены 48 больных, которые проходили лечение в период с 2016 по 2018 г. Данным пациентам был применен разработанный лечебно-диагностический алгоритм. На основании ЛДА больным раком толстой кишки, которым планировалось радикальное оперативное лечение, выполняли анализ кала методом ПЦР («КОЛОНОФЛОР-16») с целью определения состояния микрофлоры толстой кишки и выявления ее качественных и количественных нарушений. В случае выявления высокого риска прогрессирования ДТК проводили коррекцию в течение 7 дней, согласно

«Протоколу ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (приказ Минздрава России № 231 от 09.06.2003, Москва) (рисунок 2.9).

Критерии включения:

- гистологически верифицированный рак толстой кишки T1-4N0-2M0;
- радикальное оперативное вмешательство по поводу рака толстой кишки лапароскопическим доступом.

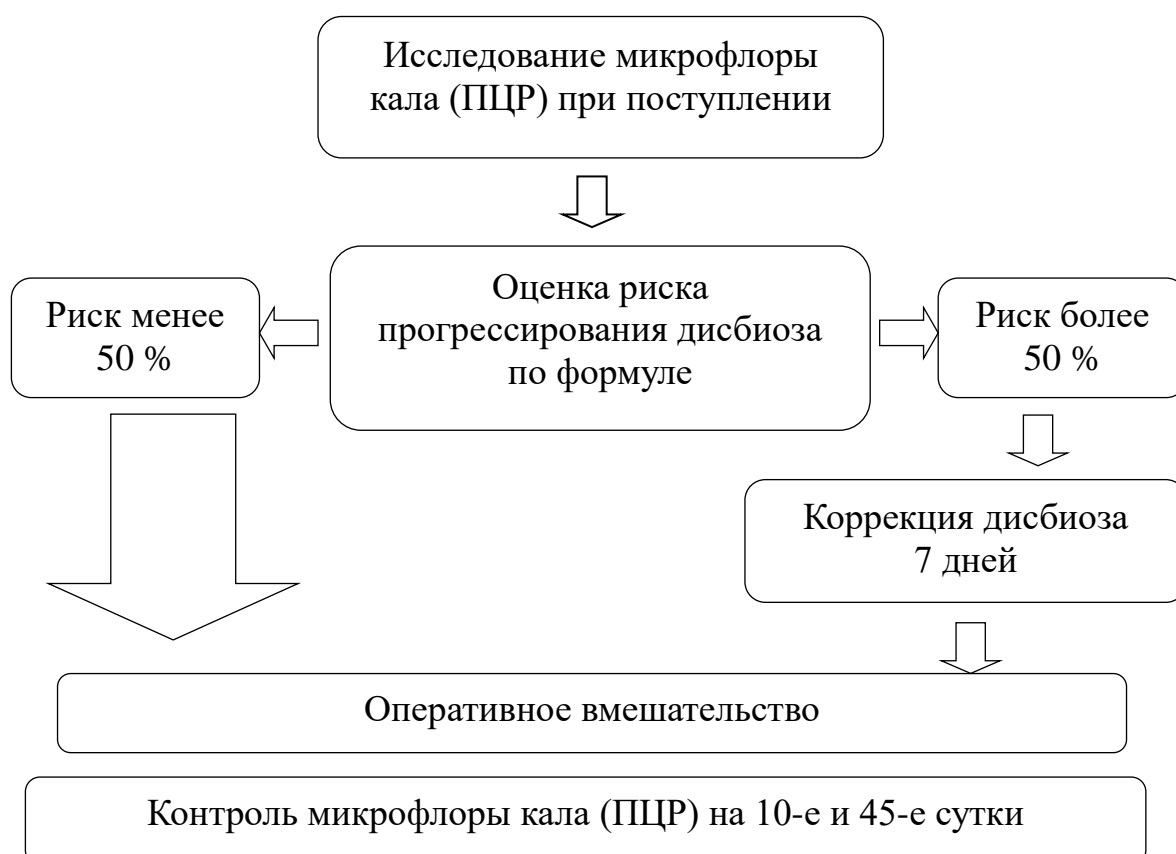
Критерии невключения:

- хронические воспалительные заболевания толстой кишки;
- отдаленные метастазы;
- неoadьювантное лечение;

Критерии исключения:

- конверсия во время лапароскопической операции;
- низкий риск прогрессирования ДТК по разработанной формуле.

Все пациенты были проинформированы о цели и объеме предстоящего исследования. Каждым больным было подписано информированное согласие.





При отсутствии клинических данных дисбиоза пациент выписывается на амбулаторное лечение. При наличии дисбиоза по данным ПЦР – коррекция дисбиоза амбулаторно. Повторный анализ кала (ПЦР) на 45-е сутки.

Рисунок 2.9 – Лечебно-диагностический алгоритм периоперационной коррекции дисбиоза толстой кишки

Периоперационная коррекция дисбиоза включала в себя деконтаминацию условно-патогенной и патогенной микрофлоры антибактериальными препаратами в зависимости от результатов анализа ПЦР кала. Преимущественно использовались Метронидазол (250 мг 4 раза в сутки в течение недели), Рифаксимин (200 мг 3 раза в сутки в течение недели), Ванкомицин (250 мг 4 раза в сутки в течение недели). Использование пре-, пробиотиков при снижении нормальной микрофлоры толстой кишки (бифидо-, лактосодержащие препараты) с целью восстановления микрофлоры толстой кишки.

После хирургического лечения проводили повторный ПЦР-анализ кала на дисбиоз толстой кишки на 10-е сутки с целью дальнейшей его коррекции и профилактики отдаленных осложнений. При наличии клинических проявлений дисбиоза проводили анализ кала на выявление токсинов *Cl. difficile*, при их обнаружении проводили консервативную терапию в зависимости от стадии заболевания. Препаратами выбора были Метронидазол (500 мг 3 раза в сутки в течение 10 дней) и Ванкомицин (125 или 500 мг 4 раза в сутки в течение 10 дней). При отсутствии токсинов *Cl. difficile* проводили коррекцию дисбиоза в зависимости от выявленных нарушений.

Пациенты основной группы и группы сравнения сопоставимы по полу, возрасту (таблица 2.10), локализации первичной опухоли (таблица 2.11), осложнениям основного заболевания (таблица 2.12), по степени

дифференцировки опухоли (таблица 2.13), стадиям заболевания (таблица 2.14; таблица 2.15) и объемам оперативных вмешательств (таблица 2.16).

Таблица 2.10 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по возрасту и полу

Возраст, лет	Пол	Основная группа (n=48)				Группа сравнения (n=51)			
		абс.		%		абс.		%	
45–59	М	3	5	6,3	10,4	4	7	7,8	13,7
	Ж	2		4,2		3		5,9	
60–76	М	12	33	25,0	68,8	14	35	27,4	68,6
	Ж	21		43,7		21		41,2	
75–90	М	4	10	8,3	20,8	3	9	5,9	17,6
	Ж	6		12,5		6		11,7	

Таблица 2.11 – Распределение пациентов по локализации опухолевого процесса

Локализация опухоли	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n=51)	
	абс.	%	абс.	%
Слепая кишка	9	18,7	10	19,6
Восходящая ободочная кишка	3	6,3	2	3,9
Печеночный изгиб	6	12,5	5	9,8
Поперечная ободочная кишка	1	2,1	1	2,0
Селезеночный изгиб	4	8,3	5	9,8
Нисходящая ободочная кишка	2	4,2	1	2,0
Сигмовидная кишка	7	14,6	9	17,6
Ректосигмоидный отдел	6	12,5	7	13,7

Прямая кишка (верхнеампулярный отдел)	10	20,8	11	21,6
Всего	48	100	51	100

Таблица 2.12 – Осложнения основного заболевания

Характер осложнения	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n=51)	
	абс.	%	абс.	%
Субкомпенсированный опухолевый стеноз	8	16,7	8	15,7
Паратуморозный инфильтрат	11	22,9	10	19,6
Кровотечение из опухоли	2	4,2	1	2,0
Всего	21	43,8	19	37,3

Таблица 2.13 – Распределение пациентов по степени дифференцировки опухоли

Вариант дифференцировки	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n=51)	
	абс.	%	абс.	%
Высокодифференцированная аденокарцинома	11	22,9	10	19,6
Умеренно дифференцированная аденокарцинома	32	66,7	35	68,6
Низкодифференцированная аденокарцинома	5	10,4	6	11,8
Всего	48	100	51	100

Таблица 2.14 – Распределение пациентов по стадиям заболевания

Стадия	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n=51)	
	абс.	%	абс.	%
I	12	25,0	11	21,6
IIА	3	6,2	4	7,9
IIВ	1	2,1	2	3,9
IIС	3	6,2	2	3,9
IIIА	15	31,3	18	35,3
IIIВ	13	27,1	12	23,5
IIIС	1	2,1	2	3,9
Всего	48	100	51	100

Таблица 2.15 – Распределение пациентов по классификации pTNM

Показатель	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n= 51)	
	абс.	%	абс.	%
T				
T2	28	58,3	29	56,9
T3	10	20,8	12	23,5
T4a	6	12,5	6	11,8
T4b	4	8,4	4	7,8
N				
N0	19	39,6	19	37,3
N1	28	58,3	32	62,7

N2a	1	2,1	0	0
М				
М0	48	100	51	100

Таблица 2.16 – Распределение пациентов по объемам хирургического лечения

Объем хирургического лечения	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n=51)	
	абс.	%	абс.	%
Правосторонняя гемиколэктомия	12	25,0	12	23,5
Расширенная правосторонняя гемиколэктомия	7	14,6	6	11,8
Левосторонняя гемиколэктомия	2	4,2	3	5,9
Расширенная левосторонняя гемиколэктомия	4	8,3	5	9,8

Окончание таблицы 2.16

Объем хирургического лечения	Основная группа (n=48)		Группа сравнения (n=51)	
	абс.	%	абс.	%
Резекция сигмовидной кишки	11	22,9	12	23,5
Передняя резекция прямой кишки	12	25,0	13	25,5
Всего	48	100	51	100

В результате сформирован дизайн исследования, в основе которого лежит изучение кишечной микробиоты больных раком толстой кишки, выявление изменений, ведущих к прогрессированию толстокишечного дисбиоза в послеоперационном периоде. Сформированы группы пациентов и обозначены

методы исследования, которые позволяют решить поставленные задачи и оценить эффективность предложенного ЛДА.

Глава 3

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОЦЕНКИ РИСКА ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ДИСБИОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ

3.1 Характеристика микробиоты кишечника у больных группы сравнения в предоперационном периоде

В результате анализа кала методом ПЦР («КОЛОНОФЛОР-16») у всех больных (n=163) группы сравнения в предоперационном периоде были обнаружены качественные и количественные изменения в составе бактериальной флоры, которые проявлялись достоверным уменьшением количества лакто-, бифидобактерий и повышением условно-патогенной флоры. Повышение

условно-патогенной флоры наблюдалось у 120 (73,6 %) больных, снижение бифидо-, лактобактерий – у 6 (3,7 %) пациентов, повышение условно-патогенной флоры при снижении лакто- и бифидобактерии (комбинированные изменения) – у 37 (22,7 %) пациентов (рисунок 3.1).



Рисунок 3.1 – Характеристика выявленных нарушений микробиоциноза толстой кишки у больных группы сравнения

Качественные изменения состава микрофлоры проявлялись ростом *Enterobacter spp.* у 87 (53,4 %) больных. Повышение *Escherichia coli enteropathogenic* выявлено у 85 (52,1 %), *Enterococcus spp.* – у 66 (40,5 %), *Citrobacter spp.* – у 33 (20,2 %), *Fusobacter spp.* – у 31 (19,0 %), *Clostridium perfringens* – у 31 (19,0 %), *Klebsiella oxytoca* – у 23 (14,1 %) пациентов (рисунок 3.2).

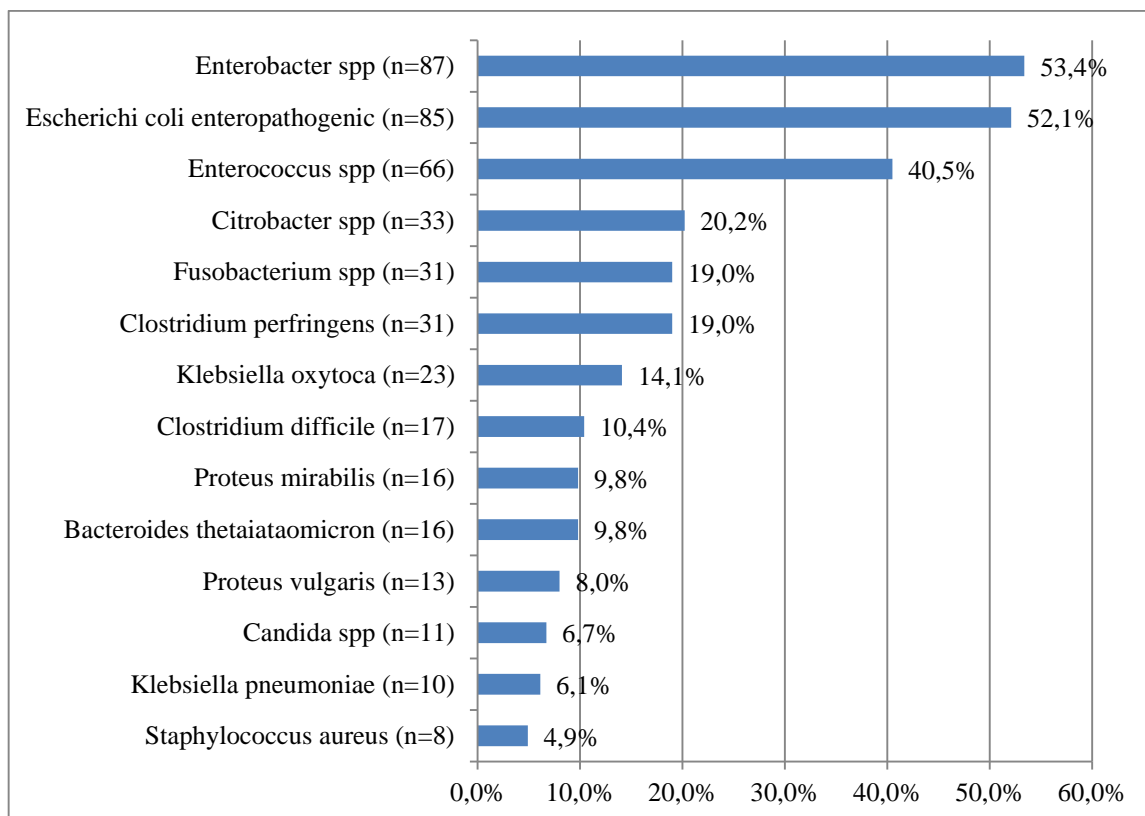


Рисунок 3.2 – Качественный анализ условно-патогенной флоры у больных группы сравнения

Выявленные изменения в микробиоценозе толстой кишки зависели от локализации первичной опухоли. У пациентов с опухолью правого фланга (n=62) повышение условно-патогенной флоры отмечалось у 36 (58,1 %) больных. Снижение бифидо-, лактобактерий – у 3 (4,8 %) пациентов, увеличение условно-патогенной флоры при снижении бифидо-, лактобактерий – у 23 (37,1 %) больных. У пациентов с опухолью левого фланга (n=40) увеличение условно-патогенной флоры отмечено в 32 (80,0 %) случаях, снижение бифидо-, лактобактерий – у 1 (2,5 %) пациента, увеличение условно-патогенной флоры при снижении бифидо-, лактобактерий – у 7 (17,5 %) больных. При локализации опухоли в ректосигмоидном отделе и прямой кишке (n=61) отмечалось повышение условно-патогенной флоры у 52 (85,2 %) больных, снижение бифидо-,

лактобактерий – у 2 (3,3 %) больных, увеличение условно-патогенной флоры при снижении бифидо-, лактобактерий – у 7 (11,5 %) больных (таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Нарушения микробиоциноза в зависимости от локализации опухоли у пациентов группы сравнения

Локализация опухоли		Повышение условно-патогенной флоры		Снижение лакто-, бифидобактерий		Повышение условно-патогенной флоры при снижении лакто-, бифидобактерий		Всего	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Правый фланг (n=62)	м	17	10,4	1	0,6	6	3,7	24	14,7
	ж	19	11,7	2	1,2	17	10,4	38	23,3
Левый фланг (n=40)	м	13	8,0			4	2,5	17	10,5
	ж	19	11,7	1	0,6	3	1,8	23	14,1
Ректосигмоидный отдел и прямая кишка (n=61)	м	15	9,2	1	0,6	4	2,5	20	12,3
	ж	37	22,7	1	0,6	3	1,8	41	25,1
Всего (n=163)	м	45	27,6	2	1,2	14	8,6	61	37,5
	ж	75	46,0	4	2,5	23	14,1	102	62,5
Итого		120	73,6	6	3,4	37	22,7	163	100

Выявленные изменения в составе кишечной микробиоты у больных ГС в совокупности с клинической картиной соответствовали ДТК I степени у 93 (57,1 %) пациентов, II степени – у 54 (33,1 %) пациентов, III степени – у 16 (9,8 %). Дисбиоз IV степени в предоперационном периоде выявлен не был (рисунок 3.3).

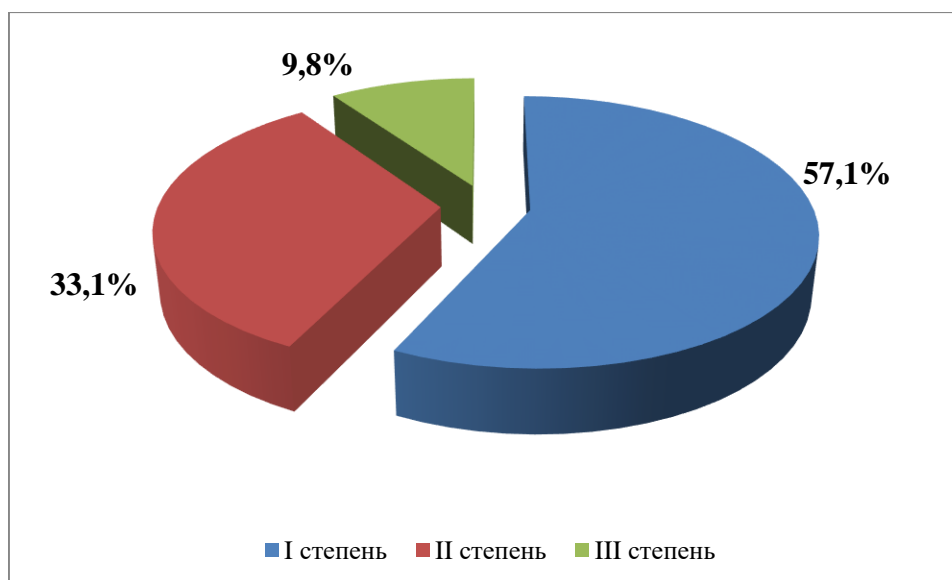


Рисунок 3.3 – Распределение пациентов группы сравнения по степени дисбиоза толстой кишки в предоперационном периоде

Отмечена зависимость степени выраженности дисбиоза от локализации опухоли: более выраженные нарушения, характеризующиеся преобладанием дисбиоза II степени, определялись при локализации опухоли в правом фланге толстой кишки. Левосторонняя локализация опухоли соответствовала ранним степеням дисбиоза у большинства пациентов (рисунок 3.4).

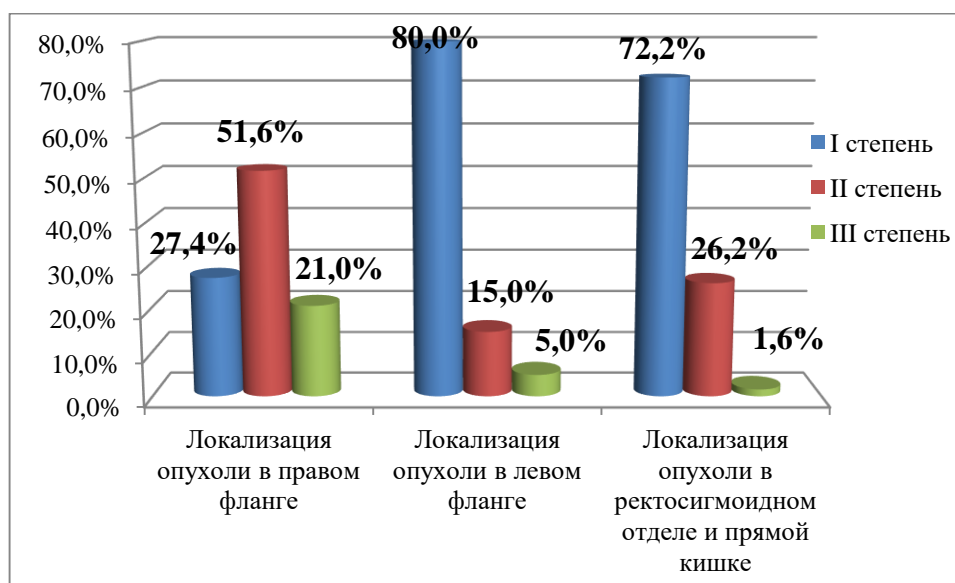


Рисунок 3.4 – Распределение пациентов группы сравнения по локализации опухоли и степени дисбиоза толстой кишки

3.2 Характеристика микробиоты толстой кишки у больных группы сравнения в послеоперационном периоде

Всем пациентам ГС проведено хирургическое лечение лапароскопическим доступом. Объемы вмешательств приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Распределение пациентов группы сравнения по видам оперативных вмешательств (n=163)

Вид оперативного вмешательства	Абс.	%
Правосторонняя гемиколэктомия	43	26,4
Расширенная правосторонняя гемиколэктомия	19	11,6
Левосторонняя гемиколэктомия	7	4,3
Расширенная левосторонняя гемиколэктомия	16	9,8
Резекция сигмовидной кишки	27	16,6
Передняя резекция прямой кишки	51	31,3
Всего	163	100

В результате анализа состава кишечной микробиоты методом ПЦР на 10-е сутки после операции выявлены изменения, показывающие прогрессирование степени ДТК, ухудшение количественного и качественного состава микрофлоры толстой кишки. У всех пациентов количество условно-патогенной флоры превышало нормальные значения.

По количественным изменениям состава толстокишечной микрофлоры пациенты распределились следующим образом: снижение лакто- и бифидобактерий изолированно не отмечалось, повышение условно-патогенной флоры выявлено у 101 (62,0 %) пациента, увеличение условно-патогенной микрофлоры при пониженном количестве облигатной микрофлоры отмечалось у 62 (38,0 %) больных (рисунок 3.5).

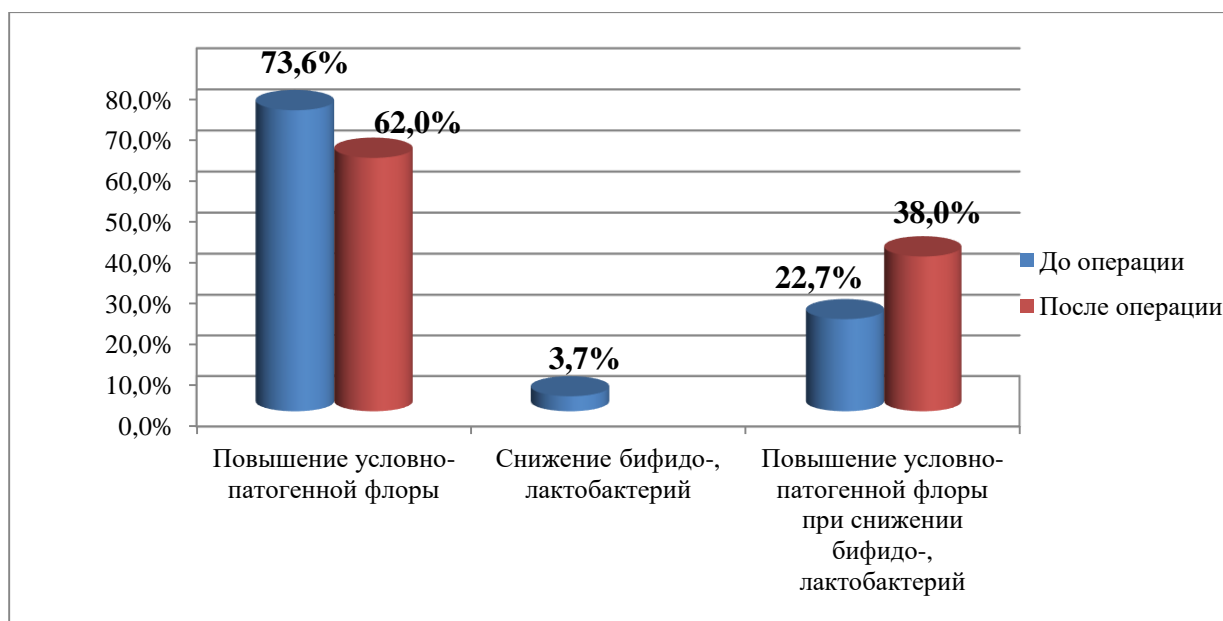


Рисунок 3.5 – Динамика нарушений состава микрофлоры толстой кишки в послеоперационном периоде у больных группы сравнения

По данным анализа кала методом ПЦР, отмечалось увеличение количества каждой популяции бактерий в послеоперационном периоде. Так, например, число пациентов с *Clostridium difficile* увеличилось более чем в 4 раза – с 17 (10,4 %) до 72 (44,2 %) больных. Также значительно увеличилось число пациентов с *Klebsiella oxytoca* – с 23 (14,1 %) до 74 (45,4 %), *Klebsiella pneumonia* – с 10 (6,1 %) до 35 (21,5 %) больных. Динамика изменений толстой кишечной микрофлоры показана на рисунке 3.6.

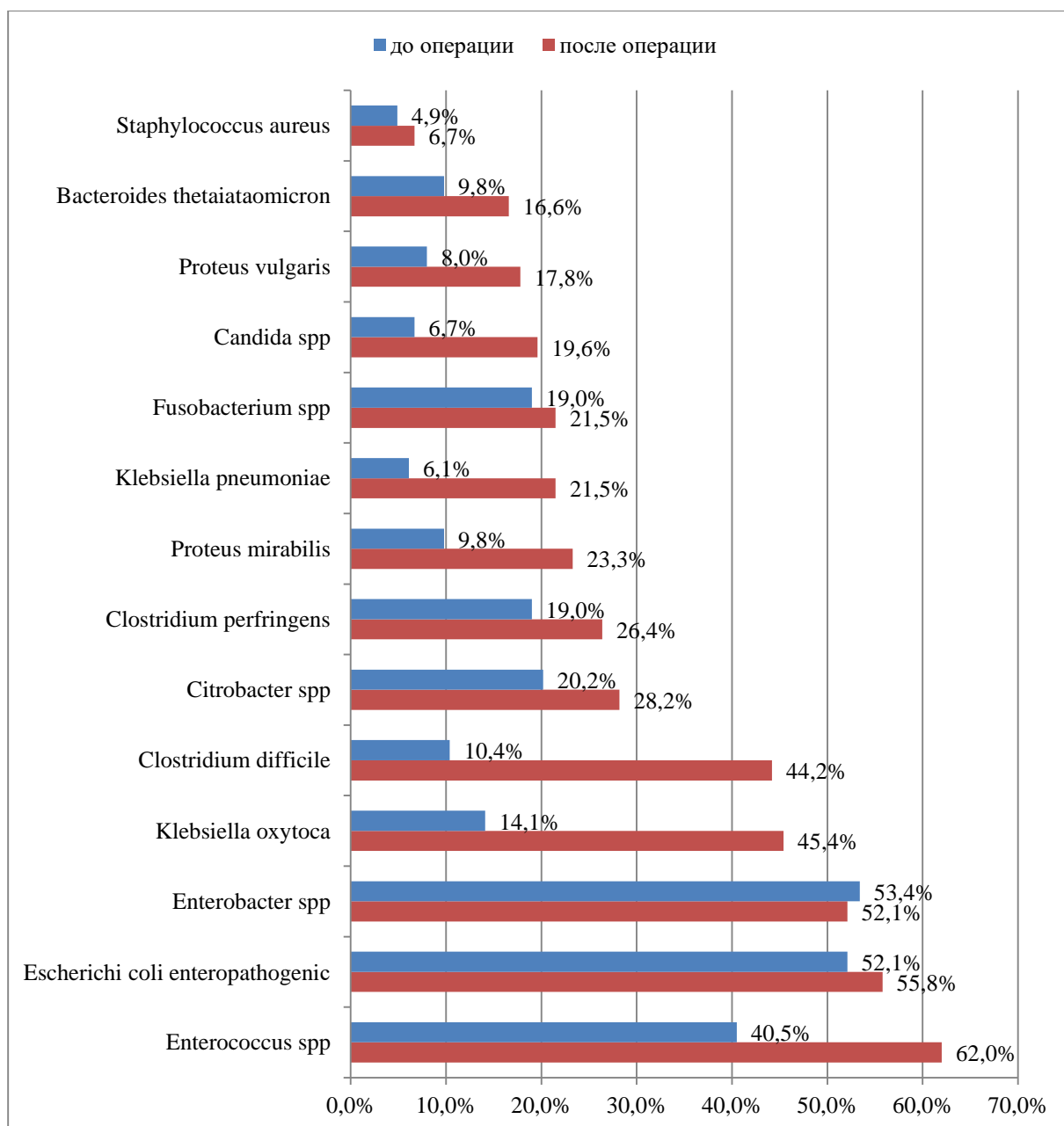


Рисунок 3.6 – Динамика качественных изменений микрофлоры толстой кишки в пред- и послеоперационном периодах

Сравнение степеней ДТК в пред- и послеоперационных периодах показало его прогрессирование у всех пациентов ГС. До операции преобладали больные с незначительными изменениями в микрофлоре толстой кишки: I степень – у 101 (57,1 %) больного, II степень – у 54 (33,1 %), незначительную часть составили пациенты с III степенью – 16 (9,8 %) человек, с IV степенью ДТК пациентов не было. Клинические проявления не отмечены. На 10-е сутки после операции

значительно увеличилось количество условно-патогенной флоры, резко снизились показатели анаэробной флоры. Выросло число пациентов со II и III степенью ДТК, и появились 8 (4,9 %) больных с IV степенью (рисунок 3.7).

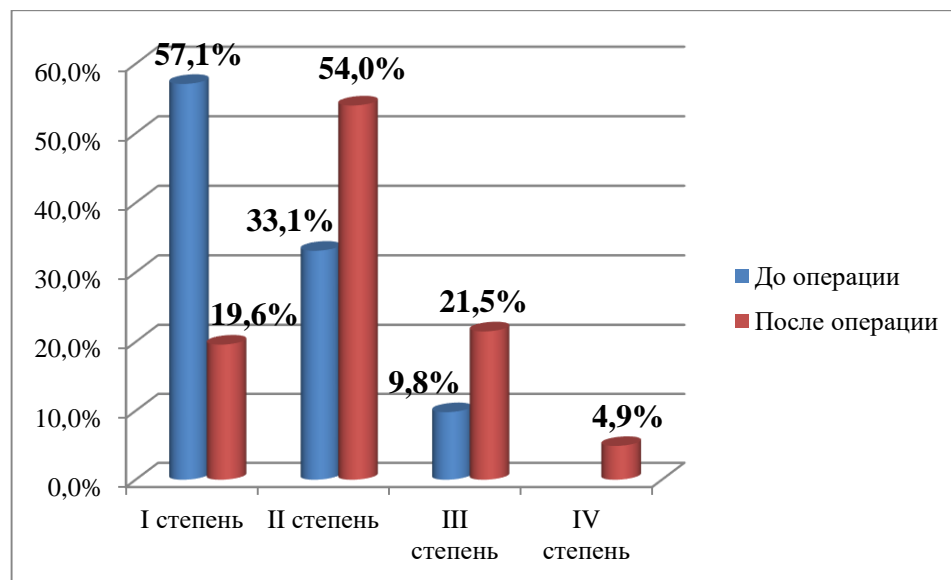


Рисунок 3.7 – Динамика прогрессирования дисбиоза толстой кишки после оперативного лечения у пациентов группы сравнения

При локализации опухоли в правых отделах живота (n=62) в послеоперационном периоде также преобладали больные со II степенью ДТК – 28 (45,1 %) человек, однако увеличилось число больных с III степенью до 23 (37,1 %) пациентов, и появились 5 (8,1 %) пациентов с IV степенью ДТК. Число пациентов с I степенью ДТК снизилось до 6 (9,7 %) случаев. Выявлено значительное прогрессирование ДТК после хирургического лечения (рисунок 3.8).

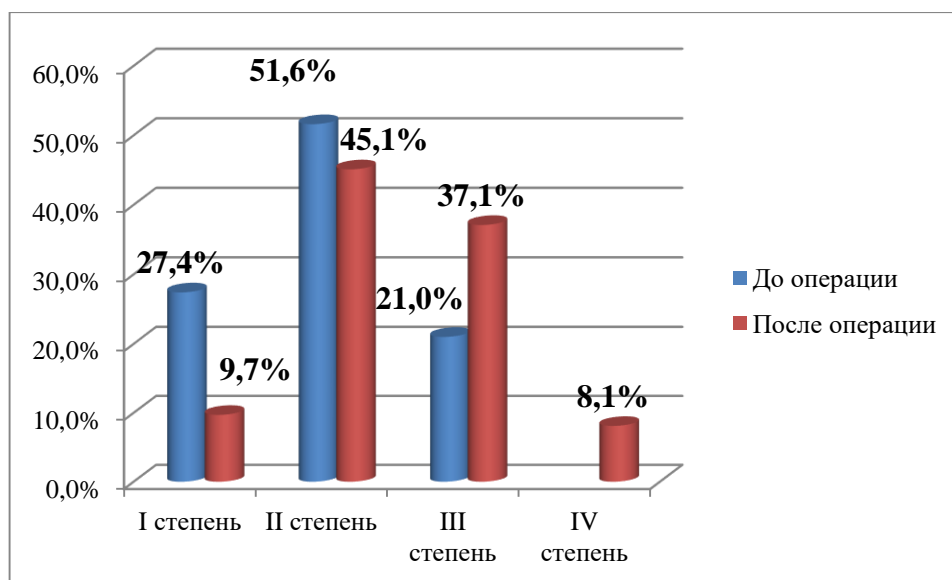


Рисунок 3.8 – Динамика прогрессирования дисбиоза у пациентов группы сравнения при локализации опухоли в правых отделах толстой кишки после оперативного лечения

У пациентов ГС при локализации опухоли в левых отделах толстой кишки после оперативного лечения преобладали больные с I степенью ДТК – 17 (42,5 %) пациентов. II степень диагностирована у 13 (32,5 %), III степень – у 8 (20,0 %), у 2 (5,0 %) пациентов определялась IV степень ДТК (рисунок 3.9).

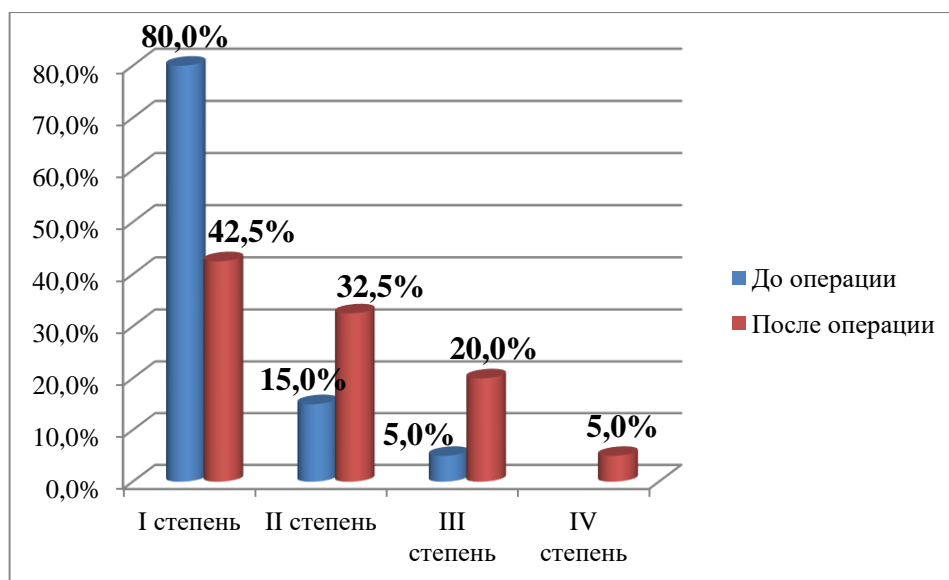


Рисунок 3.9 – Динамика прогрессирования дисбиоза после хирургического лечения у пациентов при локализации опухоли в левых отделах толстой кишки

При локализации опухоли в ректосигмоидном отделе и прямой кишке после оперативного лечения в ГС преобладали больные со II степенью ДТК – 47 (77,0 %) человек. У большинства больных отмечено прогрессирование степени ДТК. У 1 (1,6 %) пациента диагностирован дисбиоз IV степени (рисунок 3.10).

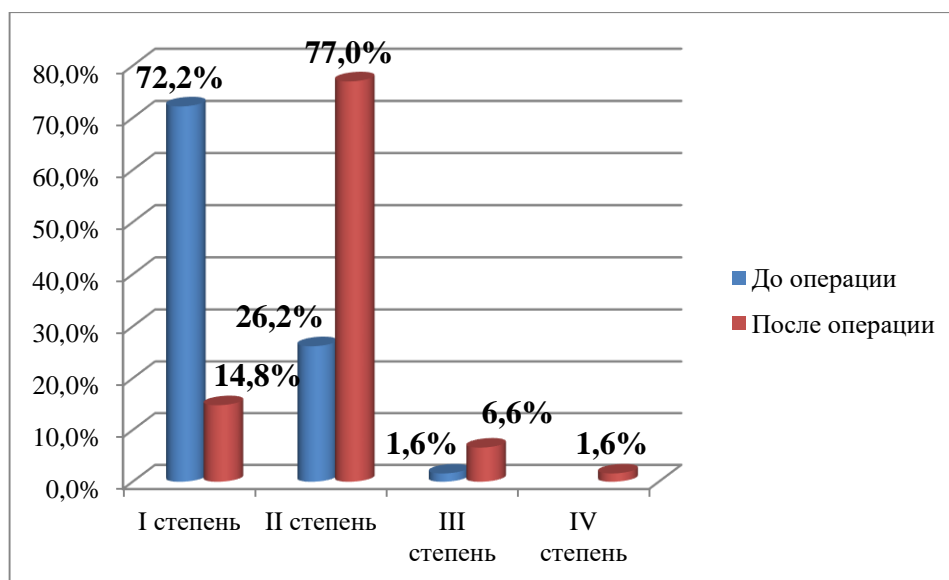


Рисунок 3.10 – Динамика прогрессирования дисбиоза после хирургического лечения у пациентов с локализацией опухоли в ректосигмоидном отделе толстой кишки и прямой кишке

3.3 Результаты лечения больных группы сравнения в раннем послеоперационном периоде

У пациентов ГС (n=163) осложнения были отмечены в 39 (23,9 %) случаях (рисунок 3.11).

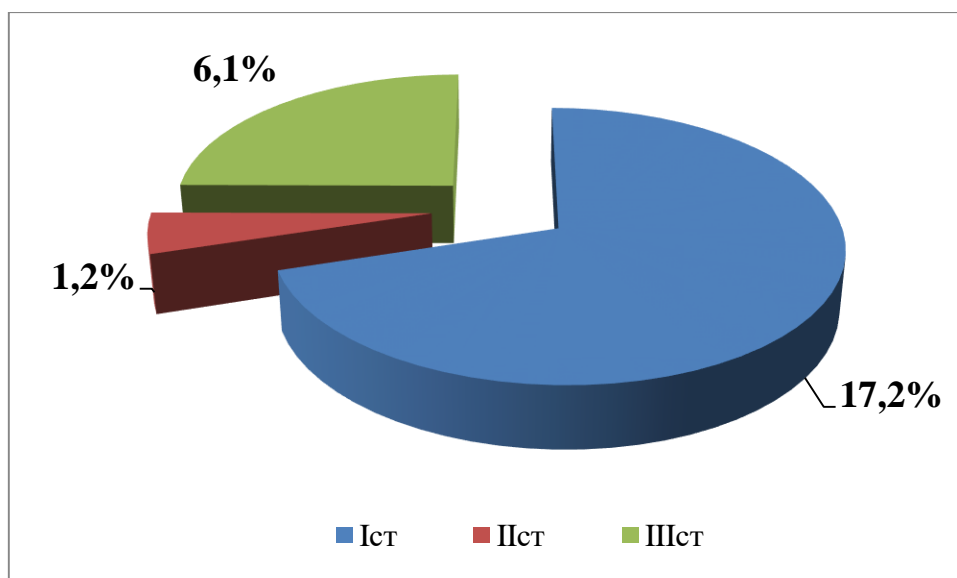


Рисунок 3.11 – Хирургические осложнения у пациентов группы сравнения по классификации Clavien – Dindo

Несостоятельность анастомоза возникла в 5 (3,1 %) случаях, нагноение послеоперационной раны – в 9 (5,5 %), абсцесс брюшной полости и малого таза был выявлен у 5 (3,1 %) пациентов. У 21 (12,9 %) пациента отмечались жалобы, характерные для толстокишечного дисбиоза (снижение аппетита, тошнота, боли в животе, метеоризм, диарея, повышение температуры). *Cl.difficile* выявлены у 6 (3,7 %) больных (рисунок 3.12).

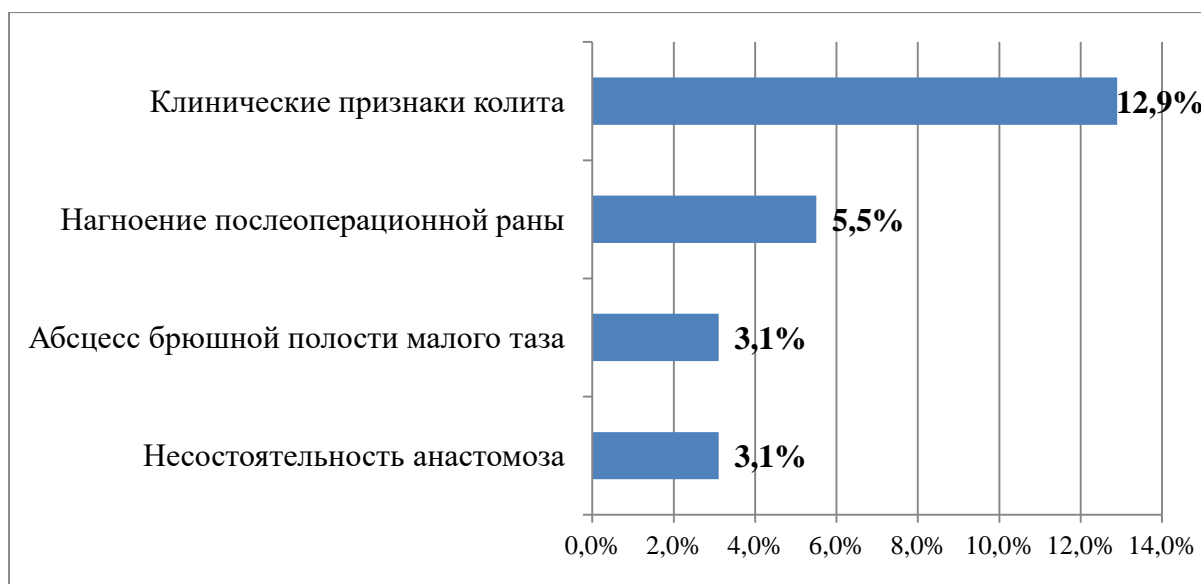


Рисунок 3.12 – Характер ранних послеоперационных осложнений у больных группы сравнения

При локализации опухоли в правых отделах послеоперационные осложнения возникли у 17 (27,4 %) пациентов. У 1 (1,6 %) больного диагностирована несостоятельность илиотрансверзоанастомоза, что потребовало повторного оперативного вмешательства. Послеоперационный абсцесс выявлен у 2 (3,2 %) больных: у одного пациента эвакуирован пункционно под контролем ультразвукового исследования, у другого потребовалась повторная операция для санации очага. Нагноение послеоперационной раны возникло у 4 (6,4 %) пациентов, что потребовало санации и назначения антибактериальной терапии. 10 (16,1 %) пациентов предъявляли жалобы на слабость, снижение аппетита, диарею, метеоризм, лихорадку. Клиническая картина была характерна для ДТК, из них у 3 (4,8 %) пациентов выявлены токсины *Cl.difficile* (рисунок 3.13).

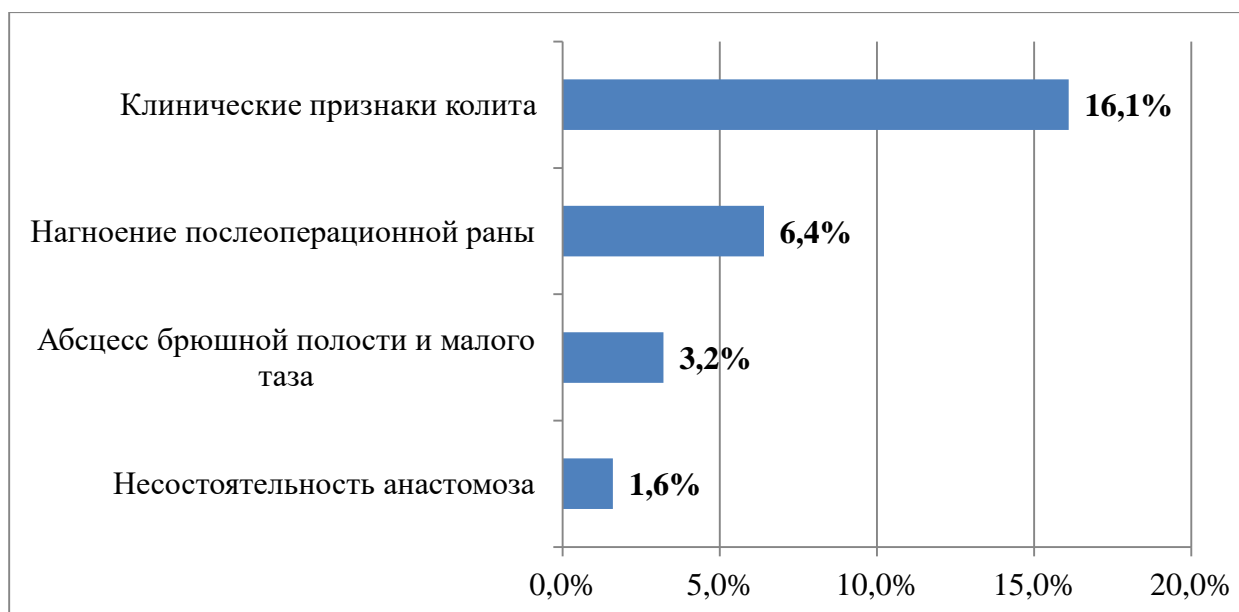


Рисунок 3.13 – Характер ранних послеоперационных осложнений у больных группы сравнения с локализацией опухоли в правых отделах толстой кишки

У пациентов с локализацией опухоли в левых отделах толстой кишки осложнения в послеоперационном периоде развились у 10 (25,0 %) человек. Из них несостоятельность трансверзоректоанастомоза возникла в 2 (5,0 %) случаях, что потребовало экстренного оперативного вмешательства. Нагноение послеоперационной раны – в 3 (7,5 %) случаях. Клинически колит проявлялся у 6 (15,0 %) пациентов, из них у 2 (5,0 %) определялись в кале токсины *Cl.difficile* (рисунок 3.14).

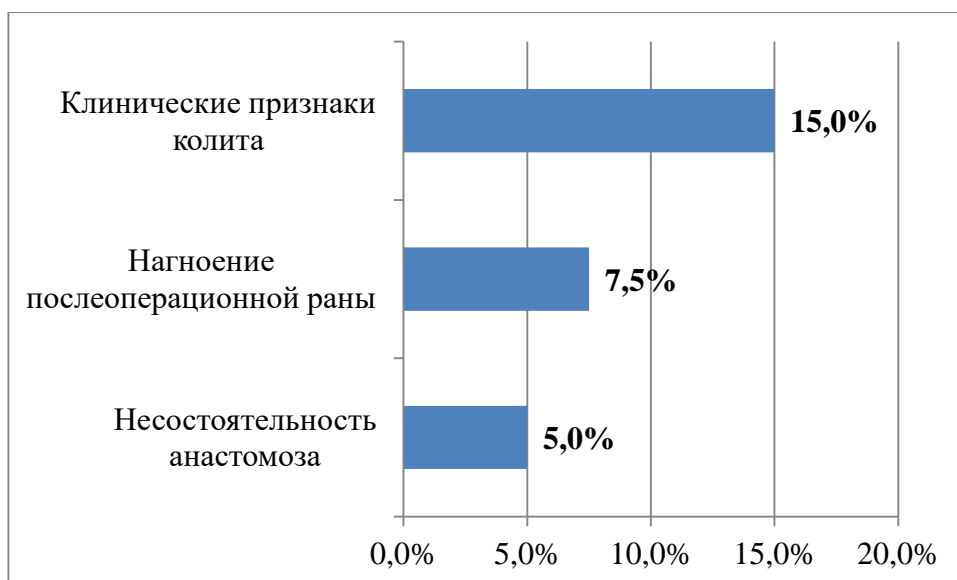


Рисунок 3.14 – Характер ранних послеоперационных осложнений у больных группы сравнения с локализацией опухоли в левых отделах толстой кишки

Послеоперационные осложнения возникли у 12 (19,7 %) пациентов с локализацией опухоли в ректосигмоидном отделе толстой кишки и прямой кишке. У 2 (3,3 %) пациентов возникла несостоятельность сигморектоанастомоза, что потребовало повторного оперативного вмешательства. Послеоперационный абсцесс диагностирован у 3 (4,9 %) больных (абсцесс малого таза у 2 пациентов и абсцесс брюшной полости у 1 пациента). Абсцесс брюшной полости у 1 больного дренирован путем постановки дренажа под контролем ультразвукового исследования (УЗИ), абсцесс малого таза, связанный с микронесостоятельностью сигморектоанастомоза, дренирован путем постановки дренажа трансректально под контролем УЗИ, и у 1 пациента, в связи с абсцессом малого таза, потребовалась повторная операция. Нагноение послеоперационной раны диагностировано у 2 (3,3 %) больных. Клинически колит проявлялся у 5 (8,2 %) пациентов, токсины *Cl.difficile* выявлены у 1 пациента (1,6 %) (рисунок 3.15).

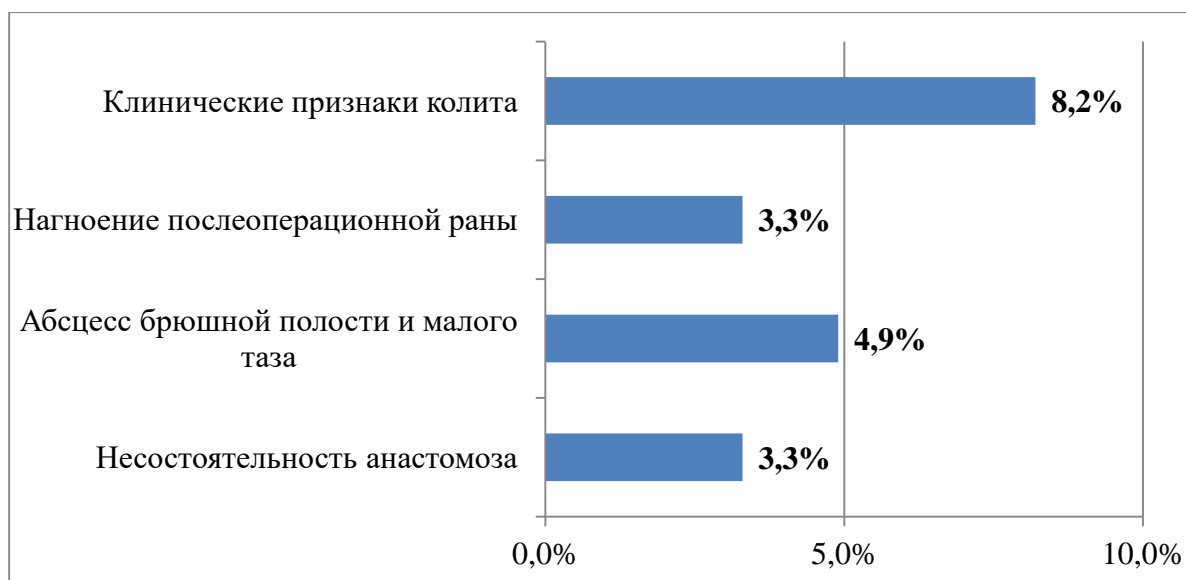


Рисунок 3.15 – Характер ранних послеоперационных осложнений у больных группы сравнения с локализацией опухоли в ректосигмоидном отделе толстой кишки или верхнеампулярном отделе прямой кишки

3.4 Разработка модели прогноза динамики дисбиоза толстой кишки у больных колоректальным раком

Из всех анализируемых показателей в процессе анализа динамики дисбиоза были выделены 5 значимых показателей, достоверно связанных с этой динамикой (таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Показатели, связанные с динамикой дисбиоза

Показатель	Характеристика
SLAB	0 – нет, 1 – да
OSL	Стеноз: 0 – нет, 1 – да
ABTER0	Антибиотикотерапия в предоперационном периоде: 0 – не проводилась, 1 – проводилась
DIAG_2	Коды 1, 2 и др.
DIS_0	Исходный дисбиоз

В таблице 3.4 приведены частоты отрицательной и терпимой динамики дисбиоза при различных категориях качественных показателей.

Таблица 3.4 – Частота положительной динамики дисбиоза при различных значениях показателей

Показатель	Значения показателей	Динамика дисбиоза				всего
		отрицательная		положительная		
		абс.	%	абс.	%	
Слабительные ($P < 0,05$)	Не принимали – 0	74	37,76	122	62,24	196
	Принимали – 1	10	66,67	5	33,33	15
	Всего	84	39,81	127	60,19	211
Стеноз ($P < 0,01$)	Нет – 0	69	36,32	121	63,68	190
	Да – 1	15	71,43	6	28,57	21
	Всего	84	39,81	127	60,19	211
Антибиотикотерапия (предоперационная) ($P < 0,001$)	Не проводилась – 0	63	34,24	121	65,76	184
	Проводилась – 1	21	77,78	6	22,22	27
	Всего	84	39,81	127	60,19	211
Диагноз ($P < 0,001$)	Все другие – 0	32	23,02	107	76,98	139
	Коды 1, 2-1	52	72,22	20	27,78	72
	Всего	84	39,81	127	60,19	211
Исходный дисбиоз ($P < 0,001$)	I степени – 0	14	14,43	83	85,57	97
	II, III, IV степени – 1	70	61,40	44	38,60	114
	Всего	84	39,81	127	60,19	211

Обобщенная оценка по всему комплексу отобранных «работающих» параметров в вероятностном формате шанса на прогрессирование дисбиоза получена нами с помощью уравнения логистической регрессии.

Также разработан алгоритм балльной оценки шанса на отрицательную динамику дисбиоза посредством традиционного расчета суммы неблагоприятных уровней показателей.

Особый интерес представляет отношение шансов (OR) для показателей, на основе которых сформированы модели (таблица 3.5). Это отношение показывает,

во сколько раз шанс на положительную динамику дисбиоза уменьшается по сравнению с уровнем показателя, когда он максимален.

Таблица 3.5 – Отношения шансов

Показатель	Значение	Отношение шансов (OR)
Слабительные	Не применялись	Минимальный шанс
	Применялись	3,3
Стеноз	Нет	Минимальный шанс
	Есть	4,4
Антибиотикотерапия (предоперационная)	Не проводилась	Минимальный шанс
	Проводилась	6,7
Локализация опухоли	Все другие	Минимальный шанс
	Слепая кишка, восходящий отдел толстой кишки	8,7
Исходный дисбиоз	I степени	Минимальный шанс
	II, III, IV степени	9,4

С данным комплексом из пяти факторов было получено уравнение логистической регрессии. Логистическая регрессионная модель позволяет получить вероятность явления в зависимости от степени выраженности конкретного набора предикторных признаков (прогноз положительного эффекта дается при $y > 0,5$, отрицательного – при $y \leq 0,5$) и степень влияния одного или группы предикторных признаков, в том числе и в процентах, на вероятность наступления прогнозируемого события (шанса на отрицательную динамику дисбиоза). Параметры логистической функции Ψ оптимальной модели приведены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Комплекс модельных характеристик для оценки шанса прогрессирования дисбиоза толстой кишки посредством логистической регрессии

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

Логистическая функция определяется как:

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

Подставив коэффициенты из таблицы, получим Ψ для оценки шанса на прогрессирование толстокишечного дисбиоза:

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

Каждый из коэффициентов регрессии описывает размер вклада соответствующего фактора. Отрицательный коэффициент регрессии означает, что данный фактор увеличивает общий шанс (т. е. повышает вероятность анализируемого исхода), в то время как положительный коэффициент означает, что этот фактор уменьшает шанс. Величина коэффициентов регрессии определяет влияние на совокупный шанс, а также в случае разномасштабных, т. е. измеряемых в разных единицах переменных, «выравнивает масштаб». Ранги (прогностическая значимость) в расчете рисков не принимают участия. Они показывают, в каком порядке каждый параметр стоит по значимости риска.

Прогностическая значимость – это «побочный» результат построения модели. Отметим следующий интересный факт. Оценка прогностической значимости комплекса показателей, на основе которых построена модель логистической регрессии посредством классификационных деревьев, показывает почти полностью совпадающий порядок значимости показателей, за исключением последнего ранга. Мы имели высокую оценку качества полученной модели: хи-квадрат = 190,53; $p < 0,0001$; OR = 105,4, $R_g = +0,98$ (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Свойства полученной модели, %

Показатель	Значение
Чувствительность	90,55
Специфичность	91,67
Диагностическая точность	91,00

Основываясь на сути уравнения логистической регрессии, можно сказать, что комплексная оценка шанса на прогрессирование дисбиоза для конкретного пациента зависит от значений всех входящих в данное уравнение показателей, т. е. неблагоприятные уровни одних параметров могут быть компенсированы «ресурсом» других. Чтобы воспользоваться моделью и точно оценить риск, необходимо по реальным данным рассчитать Ψ (ось абцисс), а затем по логистической кривой

$$y = \exp(\psi) / (1 + \exp(\psi))$$

определить вероятность шанса успешного лечения (ось ординат) (рисунок 3.16).

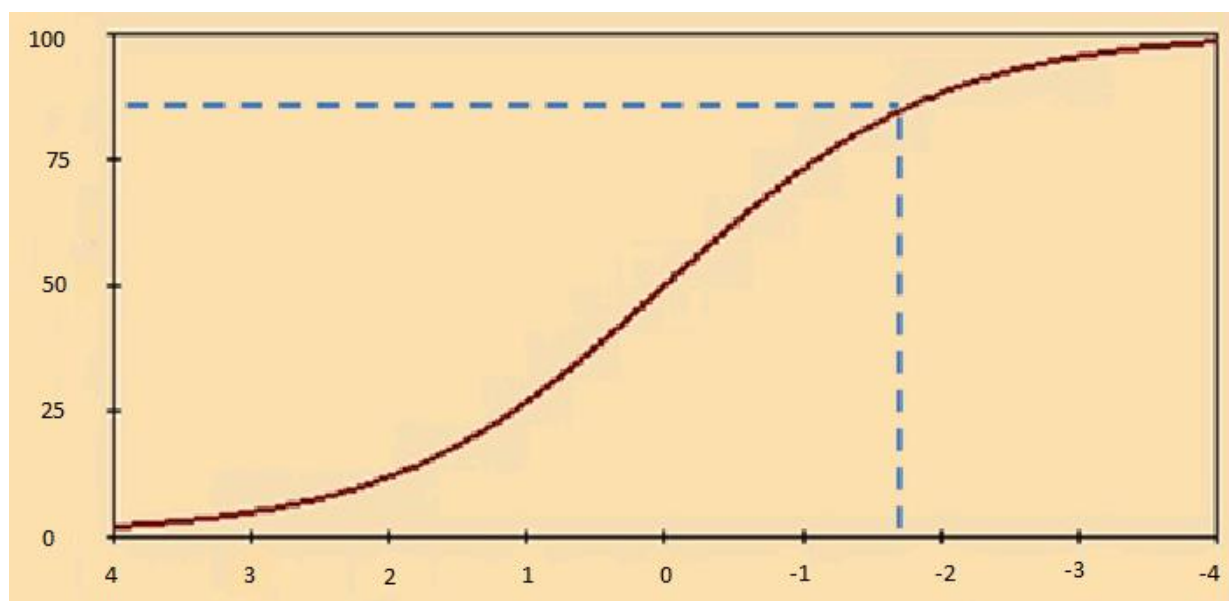


Рисунок 3.16 – Логистическая кривая

Так как логистическая кривая стандартна, то можно использовать ключевые значения Ψ для оценки шанса:

$\Psi < -2,94$ – риск более 95 %;

$\Psi < 0$ – риск более 50 %;

$\Psi > 0$ – риск менее 50 %;

$\Psi > 2,94$ – риск менее 5 %.

Другим вариантом прогнозирования динамики дисбиоза является модель, полученная на основе формирования суммарного балла риска (СБР). Для ее построения были использованы значения показателей, приведенные в таблице 3.2. СБР мы получили суммированием пяти значений соответствующих показателей, являющихся факторами риска. Его значение может находиться в диапазоне 0–5 баллов. В таблице 3.8 даны значения СБР в группах с положительной и отрицательной динамикой дисбиоза.

Таблица 3.8 – Значения суммарного балла риска

	Динамика положительная (N=127)		Динамика отрицательная (N=84)		P
	(M ± m)	min÷max	(M±m)	min÷max	
СБР	(0,64±0,07)	0÷3	(2,00±1,06)	0÷5	<0,001

На рисунке 3.17 наглядно показаны характеристики СБР в группах с положительной и отрицательной динамикой дисбиоза.

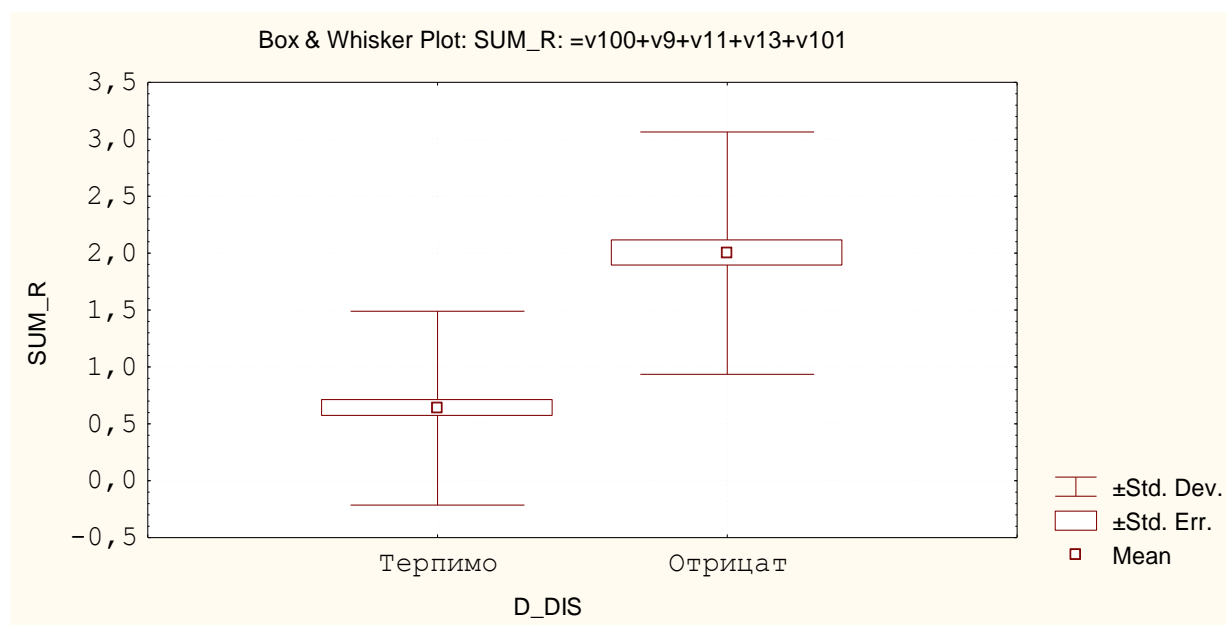


Рисунок 3.17 – Характеристики суммарного балла риска в группах с положительной и отрицательной динамикой дисбиоза

Но для практического использования принципиальное значение имеет интервальная оценка СБР, приведенная в таблице 3.9.

Таблица 3.9 – Частота положительной и отрицательной динамики дисбиоза при различных уровнях суммарного балла риска

Значение СБР	Динамика положительная		Резистентность		Всего	OR
	абс.	%	абс.	%		
0 факторов риска	72	94,74	4	5,26	76	Минимальный риск
1 фактор риска	34	57,63	25	42,37	59	13,2

Окончание таблицы 3.9

Значение СБР	Динамика положительная		Резистентность		Всего	OR
	абс.	%	абс.	%		
2–5 факторов риска	21	27,63	55	72,37	76	47,1
Всего	127	60,19	84	39,81	211	

Мы имели достоверное ($P < 0,001$) различие частот положительной и отрицательной динамики дисбиоза при различных уровнях СБР, а также высокий коэффициент ранговой корреляции $R_g = (+0,82)$, показывающий, насколько согласовано увеличение частоты отрицательной динамики дисбиоза при переходах между уровнями СБР, и это очень наглядно видно на рисунке 3.18.

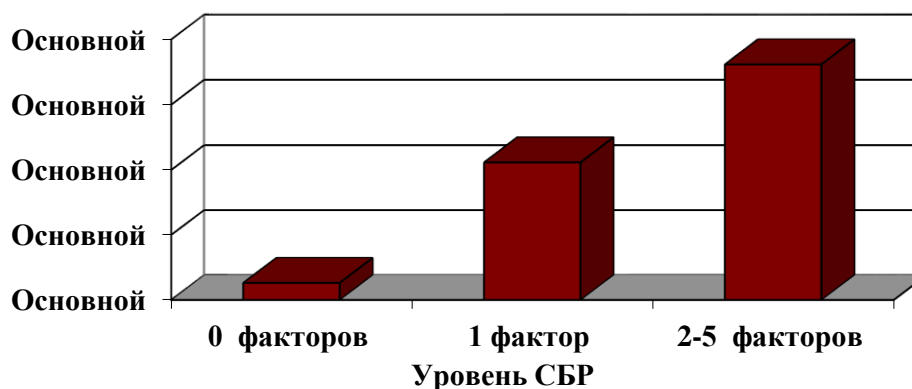


Рисунок 3.18 – Уровни СРБ

Полученные разными способами модели не только взаимно подтверждают значимость использованных в них показателей, но и позволяют оценить риск прогрессирования дисбиоза толстой кишки у пациентов с КРР.

Таким образом, проведен подробный анализ результатов исследований микрофлоры толстой кишки методом ПЦР пациентов группы сравнения (n=163). Выявлено, что у всех пациентов имеется дисбиоз толстой кишки различной степени выраженности. Преимущественно ДТК устанавливался на основании увеличения количества условно-патогенной флоры (96,3 %). После проведенного лечения степень дисбиоза прогрессировала, выросло число пациентов со сниженной облигатной флорой с 43 (26,4 %) до 62 (38 %). Бактерии условно-патогенной флоры выявлены у всех больных. Увеличилось количество, а также разнообразие популяций бактерий условно-патогенной флоры больше чем у половины пациентов в послеоперационном периоде. Проведен многофакторный анализ, в результате которого выявлены пять факторов, негативно влияющих на микробиоценоз толстой кишки: наличие ДТК, локализация опухоли в правых отделах толстой кишки, антибиотикотерапия, наличие стенозирующей опухоли, прием слабительных препаратов. Разработана комплексная модель, позволяющая прогнозировать, насколько прогрессирует ДТК в послеоперационном периоде. Данная модель позволяет выявить пациентов с высоким риском прогрессирования нарушений микрофлоры толстой кишки и провести этим пациентам предоперационную коррекцию в зависимости от выявленных изменений.

Глава 4

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕДЛОЖЕННОГО ЛЕЧЕБНО- ДИАГНОСТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА

С целью оценки эффективности разработанного ЛДА были проанализированы две группы пациентов, страдающих КРР, с различной тактикой предоперационной диагностики и лечения. Основная группа больных, которым был применен ЛДА, сформирована проспективно (n=48). Все пациенты были с высоким риском прогрессирования ДТК, в связи с чем проведена коррекция дисбиоза в предоперационном периоде в зависимости от выявленных изменений состава микрофлоры толстой кишки. После коррекции толстокишечного дисбиоза все пациенты ОГ прооперированы. Объем операции зависел от локализации опухоли и стадии онкологического процесса. После хирургического лечения проводили повторную оценку микрофлоры толстой кишки при помощи анализа ПЦР кала.

Для оценки эффективности ЛДА ретроспективно сформирована ГС (n=51), соответствующая ОГ по основным сравниваемым параметрам. Данную группу составили пациенты ГС, у которых при ретроспективной оценке по предложенной модели выявлен высокий риск прогрессирования ДТК. Больным ГС предоперационная коррекция ДТК не проводилась.

4.1 Предоперационное состояние микрофлоры толстой кишки у больных основной группы и группы сравнения

У всех пациентов обеих групп выявлены качественные и количественные изменения в составе бактериальной флоры. У большинства больных отмечено повышение количества условно-патогенной флоры. Изменений со стороны анаэробной флоры выявлено не было (рисунок 4.1).

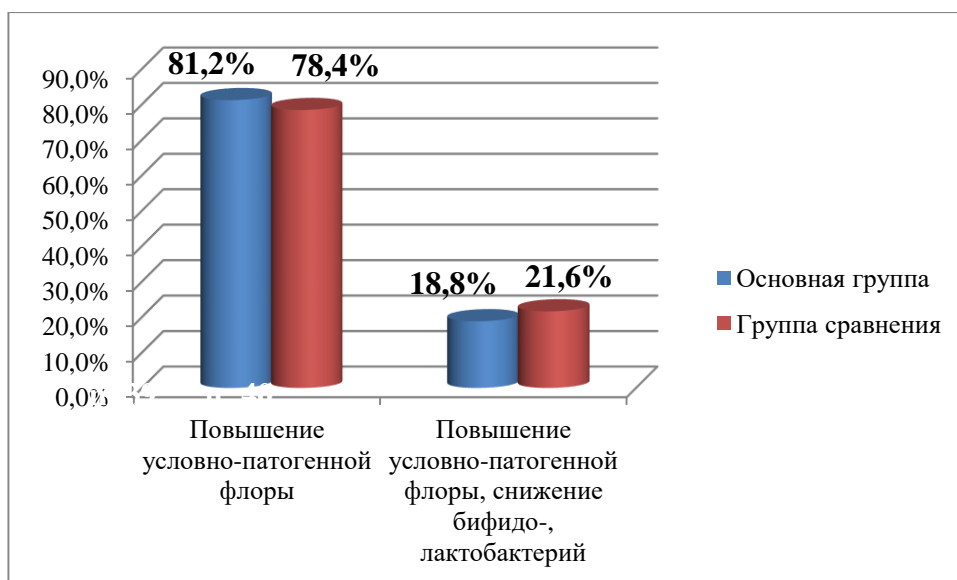


Рисунок 4.1 – Характеристика выявленных нарушений микробиоциноза толстой кишки у больных основной группы и группы сравнения

Качественные изменения состава микрофлоры толстой кишки пациентов ОГ и ГС практически не отличались и проявлялись преимущественным ростом *Escherichia coli enteropathogenic* – у 27 (56,3 %) пациентов ОГ и у 28 (54,9 %) ГС, а также *Clostridium perfringens* – у 25 (52,1 %) и у 30 (58,8 %) соответственно. *Cl. Difficile* в ОГ были выявлены у 11 (22,9 %) больных, в ГС – у 14 (27,5 %) (рисунок 4.2).

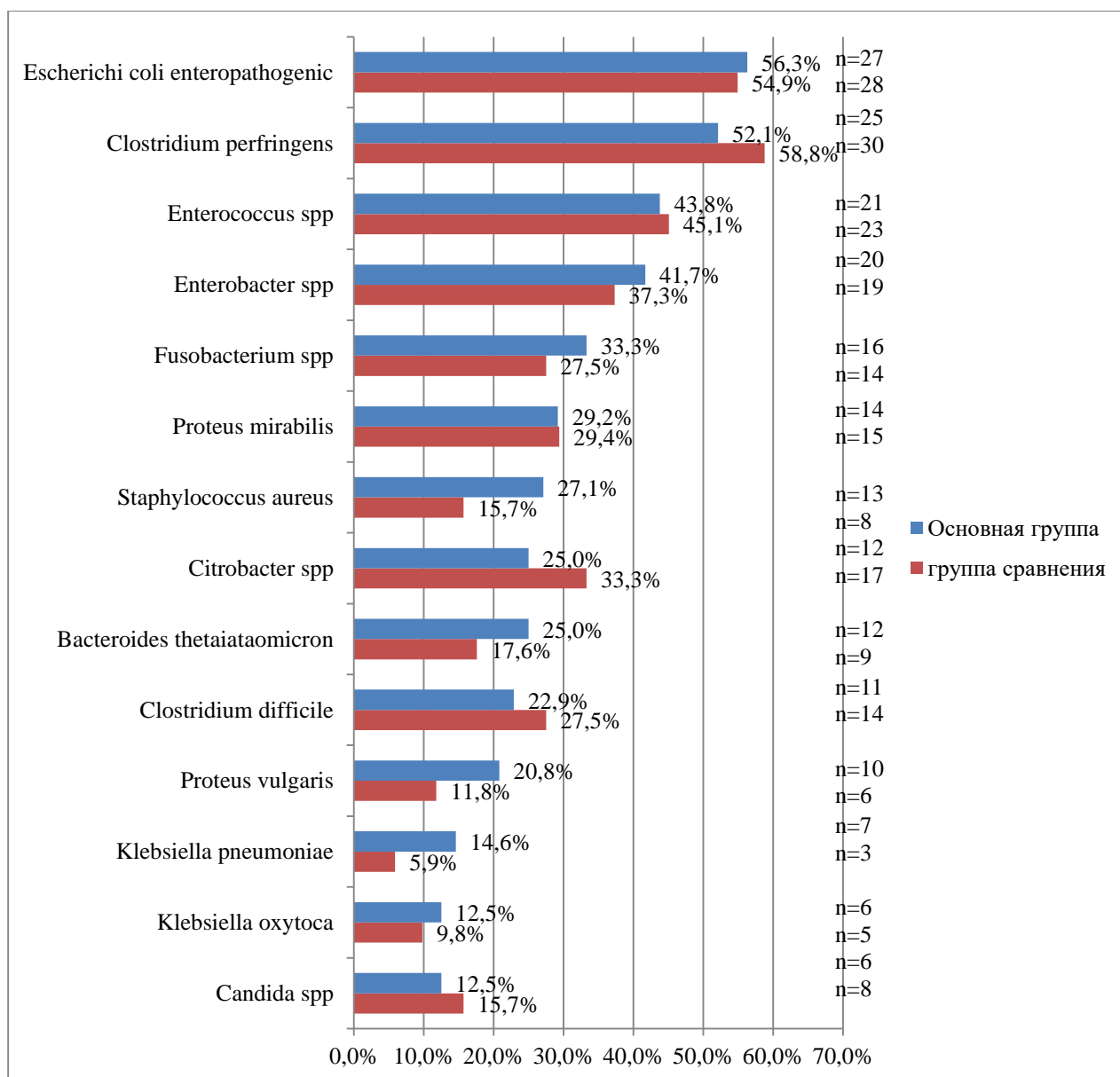


Рисунок 4.2 – Качественный анализ условно-патогенной флоры у больных основной группы и группы сравнения

У всех пациентов ОГ был диагностирован ДТК. Соотношение по степеням выраженности ДТК было примерно одинаковым в ОГ и ГС.

Преобладали больные с ДТК II и III степени. При этом клинических проявлений тяжелого дисбиоза у этих пациентов не было (рисунок 4.3).

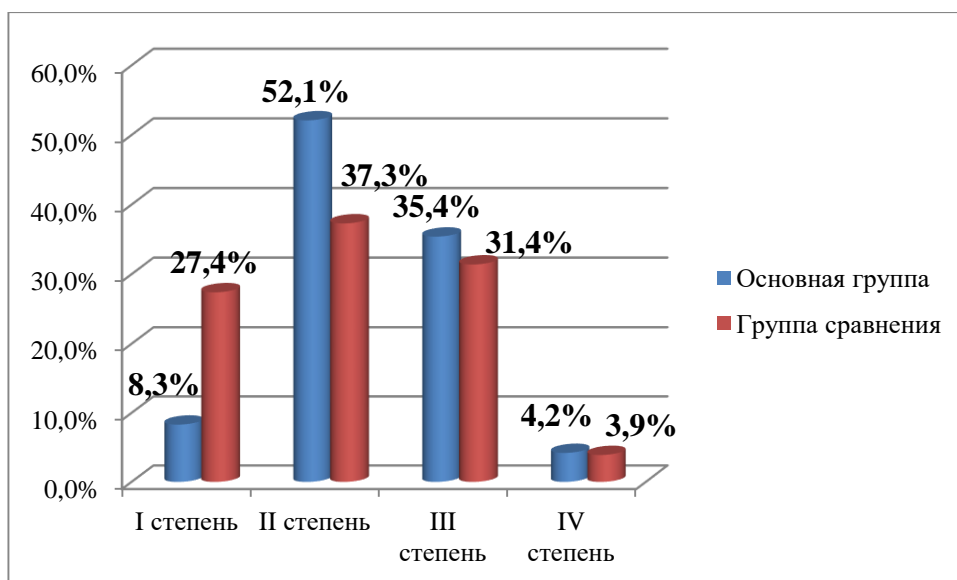


Рисунок 4.3 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по степени дисбиоза толстой кишки в предоперационном периоде

Исследуемые группы пациентов имели сходные изменения в качественном и количественном составе кишечной микробиоты в предоперационном периоде. В дальнейшем больным ОГ проведена коррекция выявленных нарушений.

4.2 Послеоперационное состояние микрофлоры толстой кишки у больных основной группы и группы сравнения

Пациентам ОГ в предоперационном периоде проводили коррекцию выявленных нарушений путем деконтаминации условно-патогенной микрофлоры «внутрипросветными» антибактериальными препаратами, а также применением пре-, пробиотиков в течение 7 дней. После оперативного лечения, на 10-е сутки, выполнен ПЦР анализ кала для оценки динамики состояния микробиоценоза толстой кишки.

В послеоперационном периоде пациенты ОГ распределились следующим образом: снизилось общее число пациентов с высоким уровнем условно-

патогенной флоры со 100 % (n=48) до 75,0 % (n=36). Появились пациенты со сниженным количеством лакто- и (или) бифидобактерий – 25,0 % (n=12). В послеоперационном периоде количественные изменения состава микрофлоры толстой кишки были незначительными, соответствовали I, II степени ДТК (рисунок 4.4).

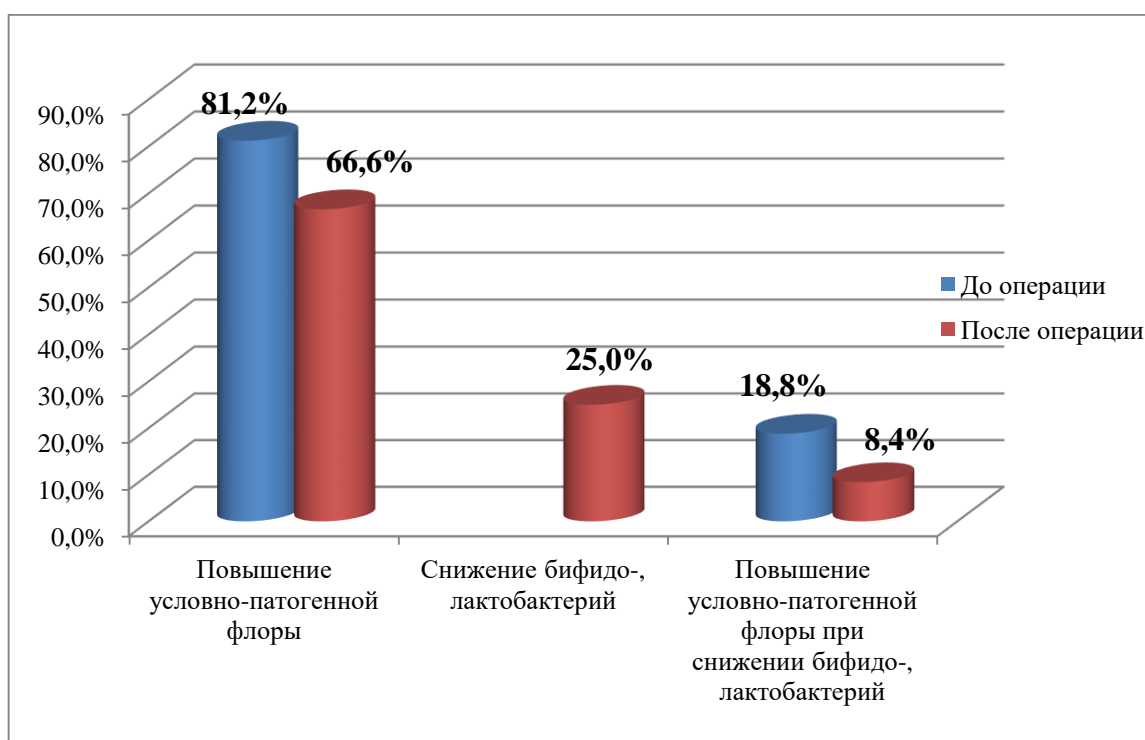


Рисунок 4.4 – Динамика изменений состава микрофлоры толстой кишки в послеоперационном периоде у больных основной группы

В группе сравнения в послеоперационном периоде у всех пациентов отмечалось увеличение количества условно-патогенной флоры, при этом увеличилось число больных со сниженным уровнем бифидо-, лактобактерий с 11 (21,6 %) до 19 (37,3 %) (рисунок 4.5).

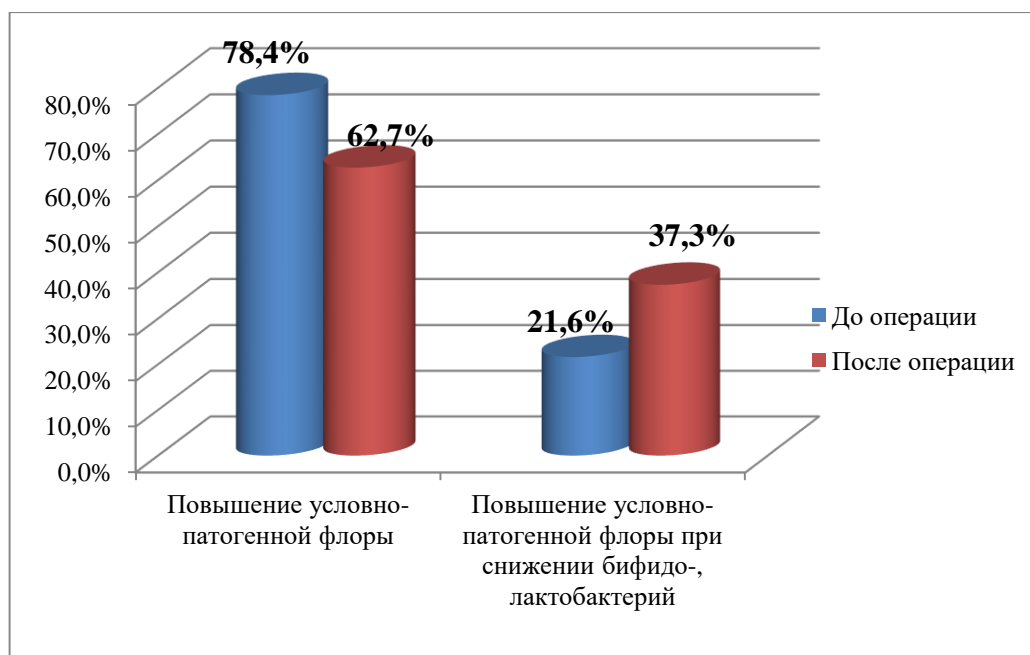


Рисунок 4.5 – Динамика изменений состава микрофлоры толстой кишки в послеоперационном периоде основной группы

У больных ОГ в послеоперационном периоде отмечалось снижение количества всех популяций бактерий. Обращает внимание 10-кратное уменьшение количества *Clostridium difficile* и отсутствие *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida spp.* Динамика изменений толстокишечной микрофлоры показана на рисунке 4.6.

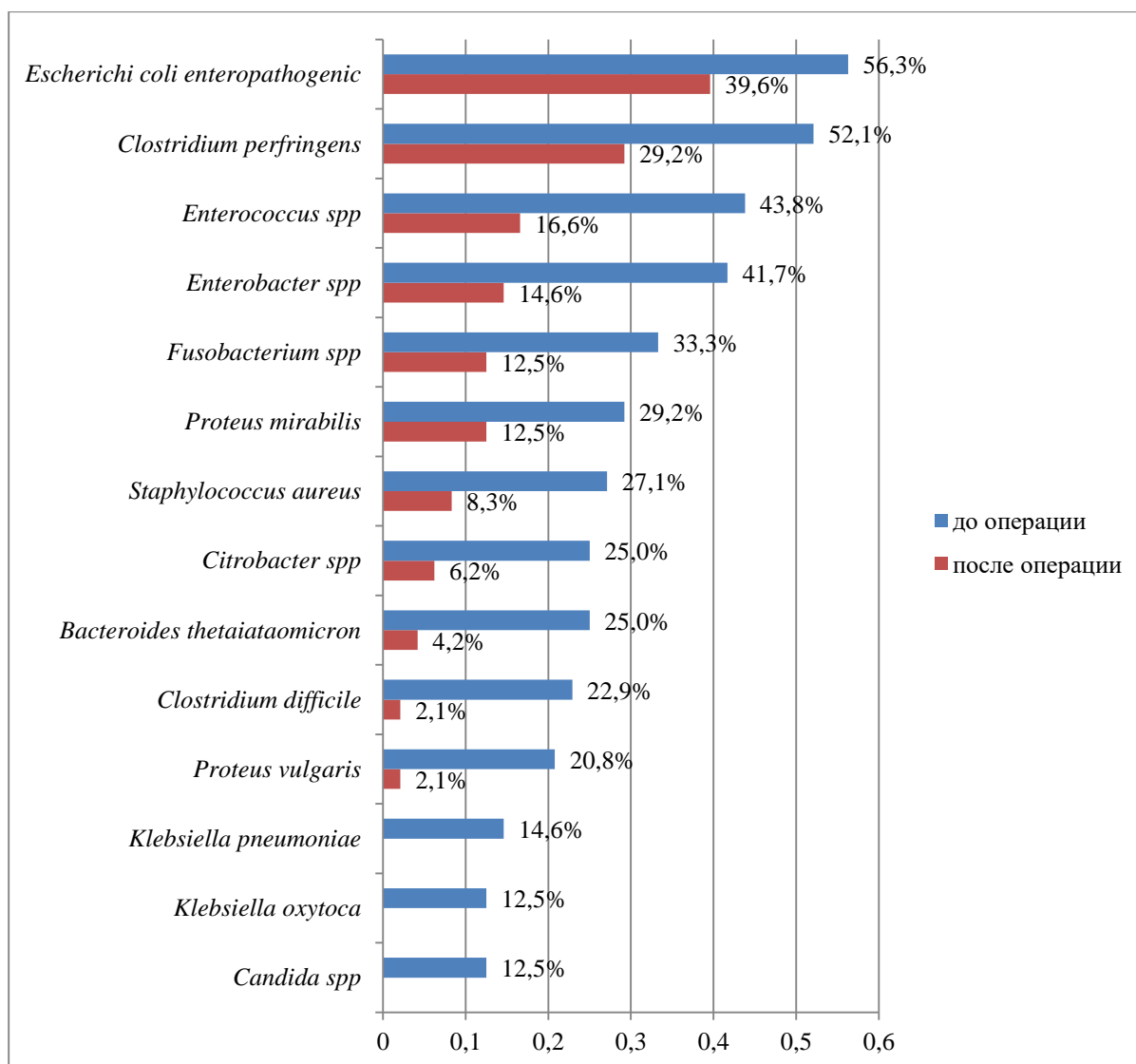


Рисунок 4.6 – Динамика качественных изменений микрофлоры толстой кишки в пред- и послеоперационном периодах у пациентов основной группы

В послеоперационном периоде качественный состав толстокишечной микрофлоры у пациентов ГС показал отрицательную динамику. Отмечался рост практически всех популяций бактерий. Резко выросло число пациентов с *Fusobacterium spp* – с 14 (27,5 %) до 26 (51,0 %), *Staphylococcus aureus* – с 8 (15,7 %) до 18 (35,3 %), а также пациентов с *Clostridium difficile* – с 14 (27,5 %) до 25 (49,0 %) (рисунок 4.7).

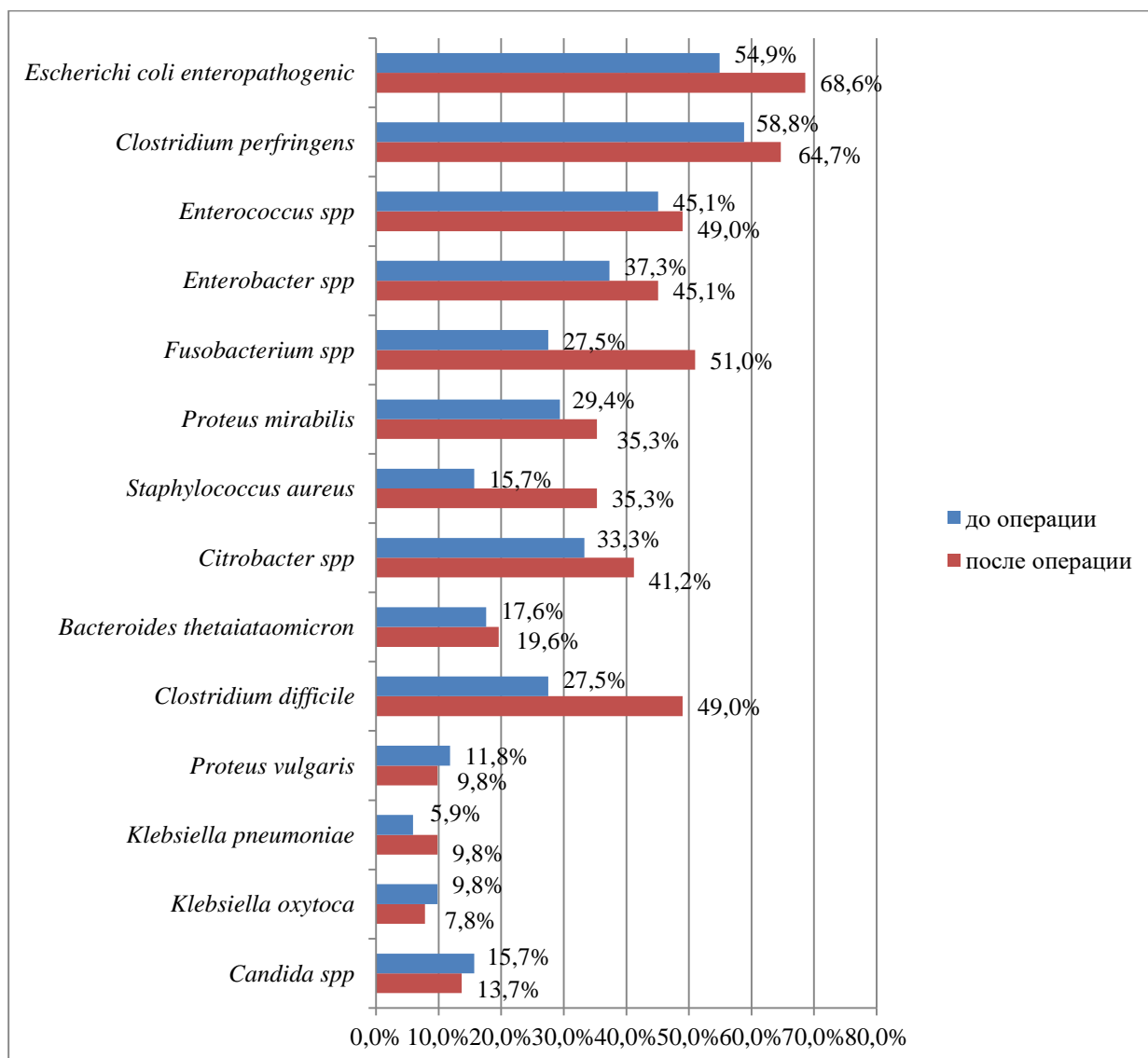


Рисунок 4.7 – Динамика качественных изменений микрофлоры толстой кишки в пред- и послеоперационном периодах у пациентов группы сравнения

При сравнении послеоперационных изменений состава микрофлоры пациентов обеих групп было выявлено, что в ГС после предоперационной подготовки, проведенной радикальной операции, консервативного лечения резко прогрессировали нарушения качественного и количественного состава микрофлоры, увеличилась разновидность условно-патогенной флоры вместе с ее количеством. У пациентов ОГ наблюдалась обратная картина. После предоперационной деконтаминацией антибактериальными препаратами

снизилось число больных с условно-патогенной флорой, количественные нарушения соответствовали I–II степени дисбиоза, значительно снизилась разнообразность бактерий (рисунок 4.8).

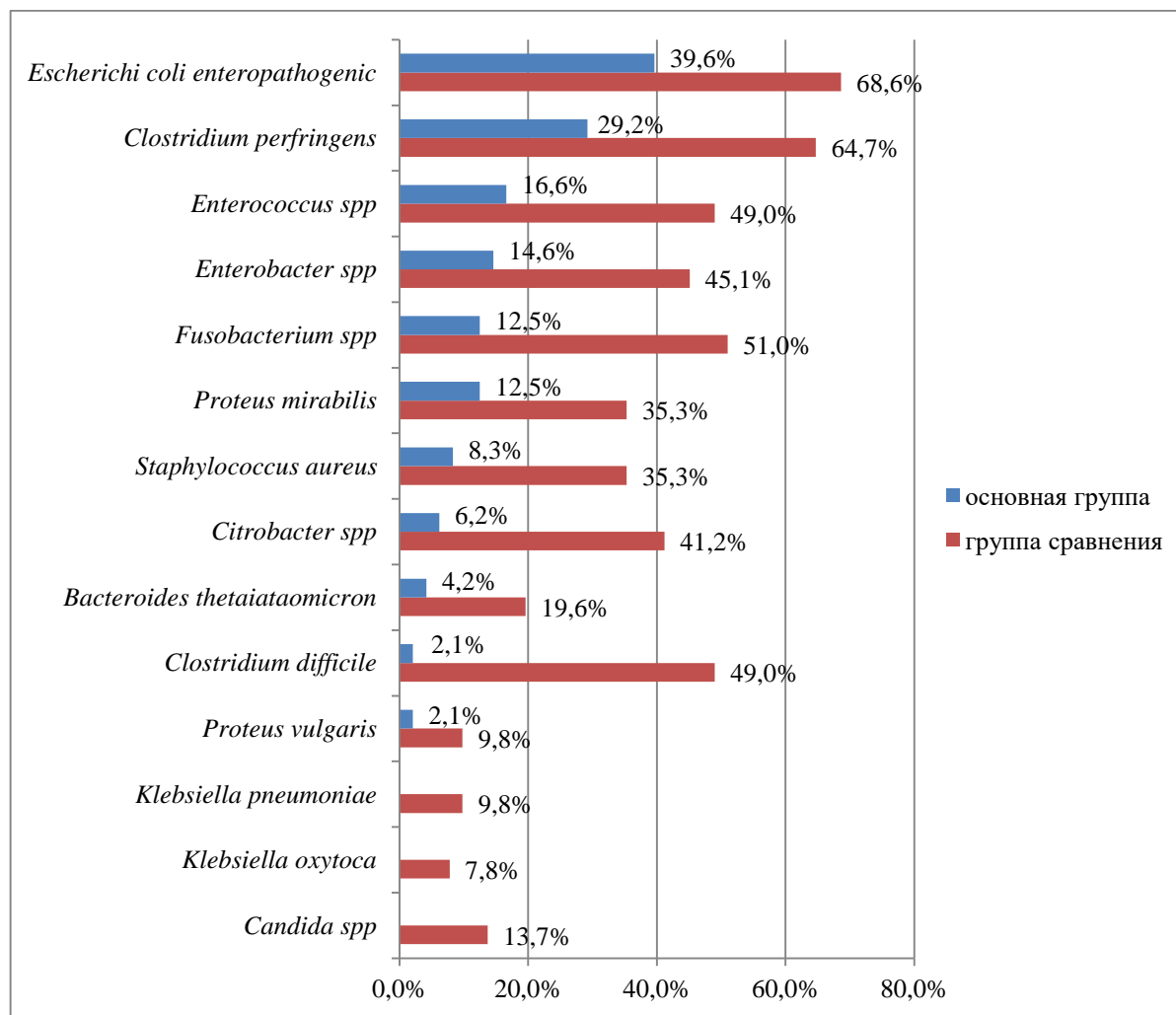


Рисунок 4.8 – Сравнение качественных изменений состава микрофлоры толстой кишки пациентов основной группы и группы сравнения в послеоперационном периоде

В ОГ в послеоперационном периоде выросло число с I степенью дисбиоза – с 4 (8,3 %) до 19 (39,6 %). Значительно снизилось число пациентов с III степенью дисбиоза – с 17 (35,4 %) до 6 (12,5 %), пациенты с IV степенью отсутствовали (рисунок 4.9).

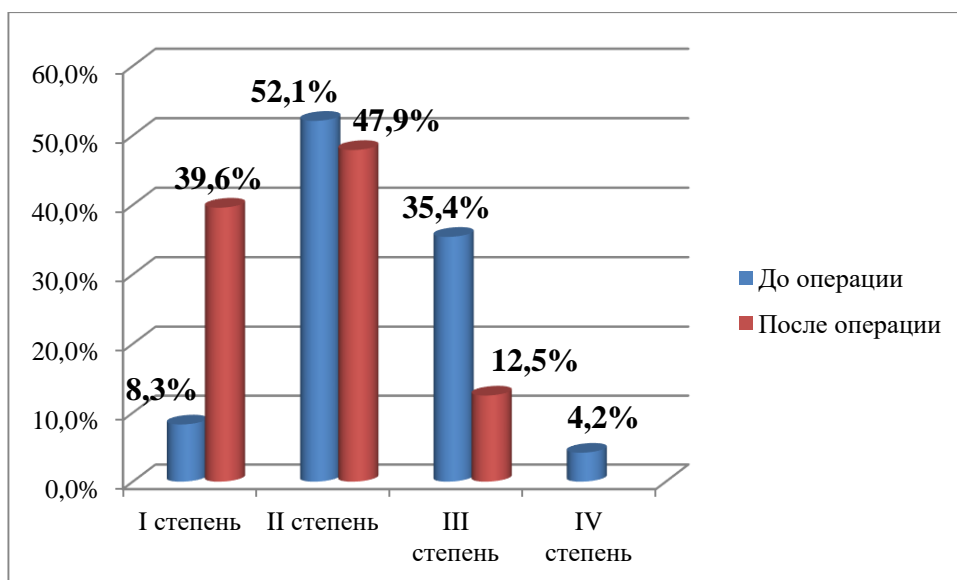


Рисунок 4.9 – Динамика дисбиоза толстой кишки после оперативного лечения у пациентов основной группы

В ГС более чем в 3 раза снизилось число пациентов с I степенью дисбиоза – с 14 (27,4 %) до 4 (7,8 %). Значительно увеличилось число пациентов со II степенью – до 26 (51,0 %), а также в 3 раза увеличилось число больных с IV степенью ДТК – с 2 (3,9 %) до 6 (11,8 %) (рисунок 4.10).

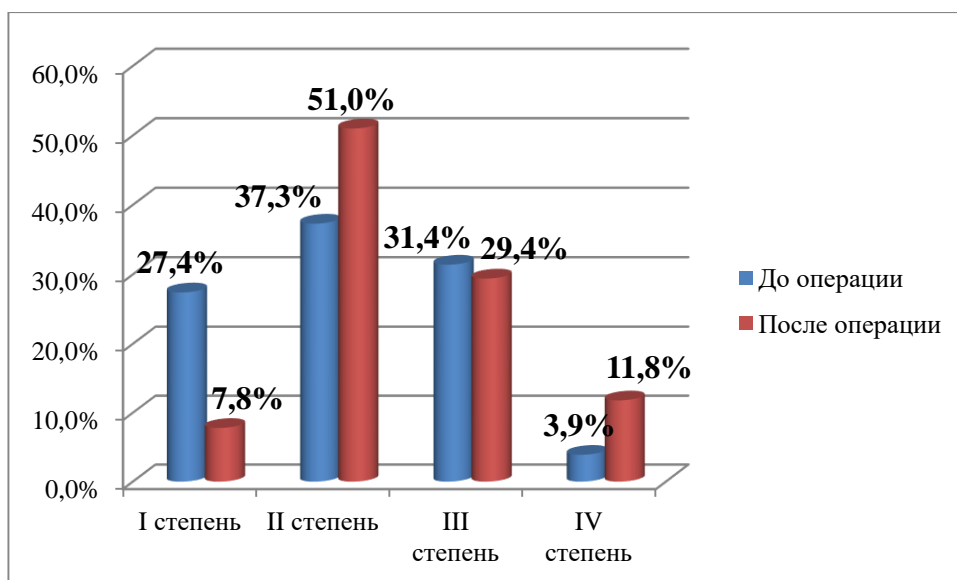


Рисунок 4.10 – Динамика дисбиоза толстой кишки после оперативного лечения у пациентов группы сравнения

При сравнении пациентов ОГ и ГС по степени дисбиоза выявлено, что большую часть ОГ составляют пациенты с I и II степенью дисбиоза – 42 (87,5 %), больные с IV степенью дисбиоза отсутствовали. ГС преимущественно составляют пациенты со II и III степенью – 41 (80,4 %), также отмечалось большое число больных – 6 (11,8 %) – с IV степенью ДТК (рисунок 4.11).

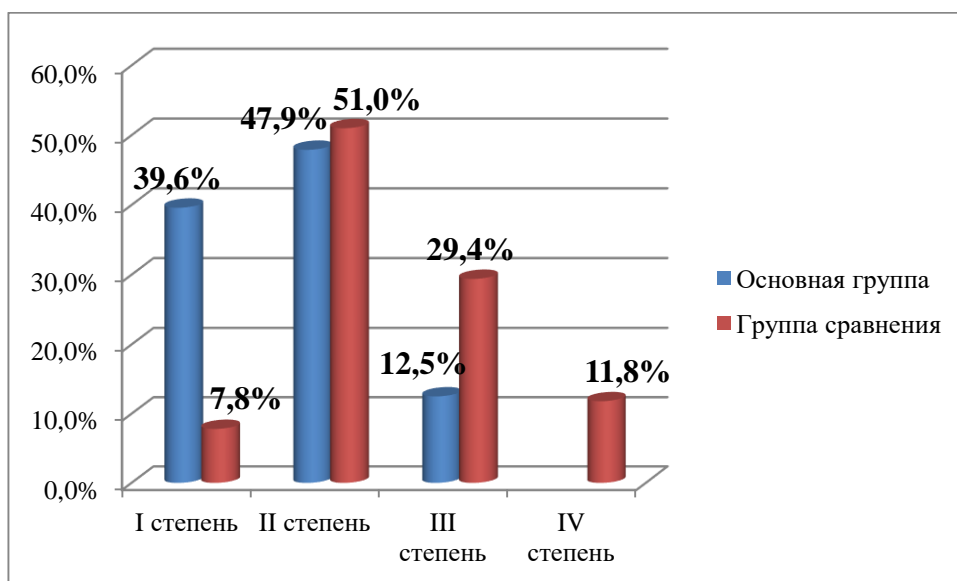


Рисунок 4.11 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по степени дисбиоза в послеоперационном периоде

4.3 Анализ послеоперационных осложнений

Осложнения наблюдались в 12 (23,5 %) случаях в ГС и в 5 (10,4 %) – ОГ (рисунок 4.12).

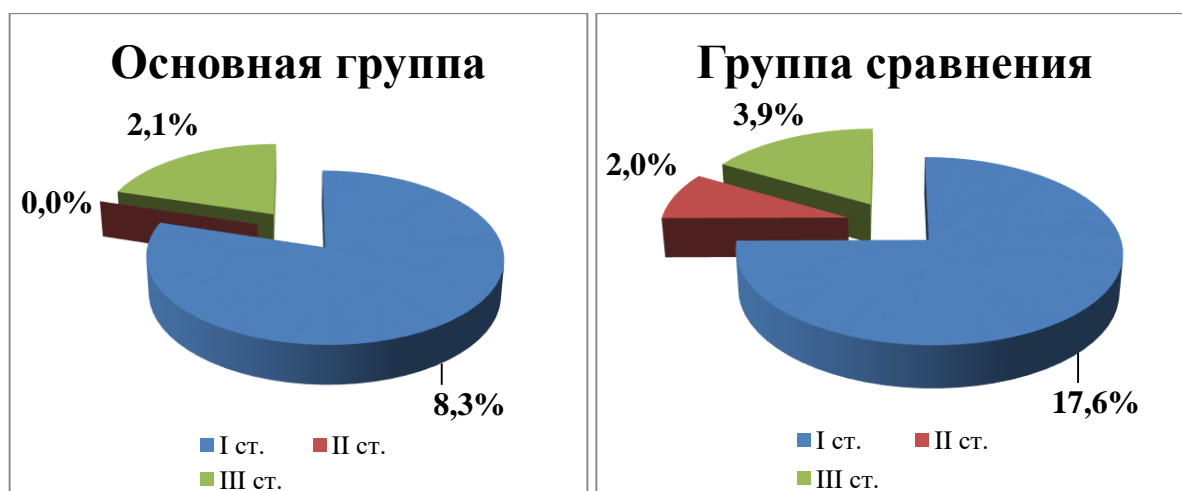


Рисунок 4.12 – Хирургические осложнения у пациентов основной группы и группы сравнения по классификации Clavien – Dindo

У пациентов основной группы несостоятельность анастомоза возникла у 1 (2,1 %) пациента, что потребовало повторного оперативного вмешательства. Нагноение послеоперационной раны возникло в 1 (2,1 %) случае, что потребовало проведение антибактериальной терапии и санации. 3 (6,3 %) пациента предъявляли жалобы на снижение аппетита, слабость, метеоризм, диарею (клиническая картина характерна для ДТК), токсины *Cl.difficile* выявлены не были.

В ГС у 1 (1,95 %) пациента диагностирована несостоятельность анастомоза в послеоперационном периоде, что потребовало экстренного оперативного вмешательства. Также в 1 (1,95 %) случае диагностирован абсцесс брюшной полости, который был санирован путем постановки дренажа под контролем УЗИ. Кровотечение из области анастомоза выявлено у 1 (1,95 %) больного. Гемостаз выполнен при помощи видеокolonоскопии, гемотрансфузия двух дох

эритроцитарной взвеси. У 2 (3,9 %) больных выявлено нагноение послеоперационной раны, проводилась санация очага, ежедневные перевязки. Клинически колит проявлялся у 7 (13,7 %) пациентов, токсины *Cl.difficile* выявлены у 2 (3,9 %) больных. Характер ранних послеоперационных осложнений приведен в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Хирургические осложнения по классификации Clavien – Dindo

Хирургическое осложнение		Основная группа (n=48), n (%)	Группа сравнения (n=51), n (%)
I	Тошнота, метеоризм, диарея, задержка стула, колит, нагноение п/о раны	4 (8,3)	9 (17,6)
II	Кровотечение из зоны анастомоза	–	1 (2,0)
IIIa	Абсцесс брюшной полости малого таза	–	1 (1,95)
IIIb	Несостоятельность анастомоза	1 (2,1)	1 (1,95)

Пациенты ОГ и ГС в послеоперационном периоде чаще всего предъявляли жалобы на наличие диареи: 7 (13,7 %) и 2 (4,2 %) больных ГС и ОГ соответственно (рисунок 4.13).

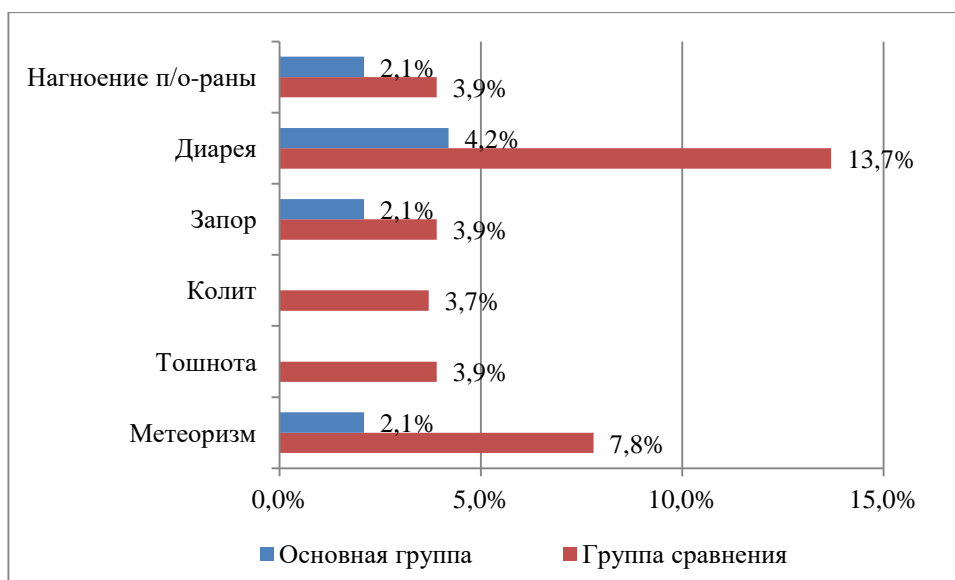


Рисунок 4.13 – Виды хирургических осложнений I степени по классификации Clavien – Dindo

В зависимости от выявленных нарушений (по результатам анализа кала методом ПЦР на 10-е сутки после операции) пациентам ОГ была назначена терапия с целью коррекции выявленных нарушений микрофлоры толстой кишки. Терапия преимущественно была направлена на восстановление облигатной микрофлоры (пре-, про-, симбиотиками). Пациенты ГС данную терапию не получали.

На 45-е сутки после операции ДТК отмечался практически у 90 % пациентов, однако в ОГ нарушений микрофлоры толстой кишки отмечалось значительно меньше, чем в ГС. Преимущественно нарушения в составе микрофлоры были за счет снижения анаэробной (облигатной) флоры – у 13 (27,1 %) пациентов ОГ против 17 (33,3 %) ГС. ДТК отсутствовал у 8 (16,7 %) больных в ОГ и у 2 (3,9 %) пациентов ГС. В ОГ преимущественно преобладали пациенты с I степенью 23 (47,9 %), в ГС большую часть составили пациенты со II степенью ДТК – 28 (54,9 %) (рисунок 4.14).

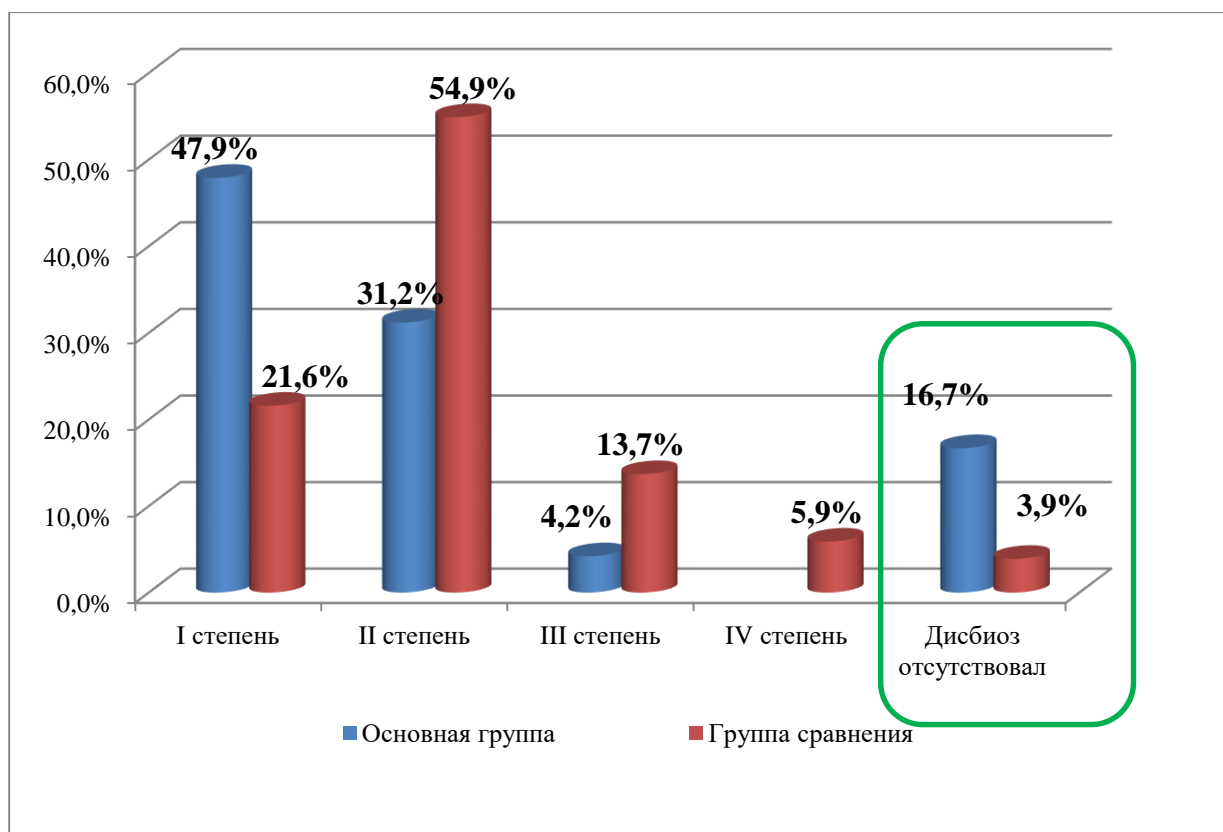


Рисунок 4.14 – Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по степени дисбиоза толстой кишки в послеоперационном периоде (45-е сутки)

Для оценки качества жизни использовался опросник EORTC QLQ-C30 v.3.0, который включает 30 вопросов и состоит из 9 основных шкал. Пять функциональных шкал включают в себя физическое (PF – с 1 по 5 пункты анкеты), ролевое (RF – 6, 7 пункты), познавательное (CF – 20, 25 пункты), социальное (SF – 26, 27 пункты), эмоциональное (EF – с 21 по 24 пункты) функционирование. Три симптоматические шкалы, которые включают в себя утомляемость (FA – 10, 12, 18 пункты), боль (PA – 9, 19 пункты), тошноту и рвоту (NV – 14, 15 пункты). Одна шкала общего состояния (QL – 29, 30 пункты). Также включены отдельные пункты: одышка (DY – 8 пункт), нарушение сна (SL – 11 пункт), снижение аппетита (AP – 13 пункт), запор (CO – 16 пункт), диарея (DI – 17 пункт), финансовые затруднения (FI – 28 пункт).

Все результаты по шкалам (баллы 1–4) и линейной аналоговой шкале (1–7) были преобразованы в баллы от 0 до 100 в соответствии с оценкой EORTC. Более

высокий показатель по функциональной шкале соответствует более высокому (лучшему) функциональному уровню. Высокий показатель по шкале симптомов указывает, насколько выражены (худший уровень) симптомы.

При сравнительной оценке качества жизни на 45-е сутки после оперативного лечения пациентов двух групп с использованием опросника EORTC QLQ-C30 существенных статистических различий среди показателей функциональных шкал не наблюдалось, однако показатели в ОГ были незначительно лучше. Более всего отличались показатели физического функционирования в ОГ ($69,43 \pm 8,0$) и в ГС ($61,45 \pm 8,6$) и ролевого функционирования – ($81,3 \pm 5,3$) и ($76,34 \pm 6,1$) соответственно ($p > 0,1$). Данные показатели отражают физическую активность и повседневную деятельность пациентов, которые, по данным анкетирования, незначительно лучше в ОГ. По симптоматическим шкалам («Усталость», «Тошнота, рвота», «Боль») пациенты двух групп были практически схожи ($p > 0,05$). При оценке шкал отдельных показателей были выявлены значительные отличия. Так, например, по показателю шкалы «Диарея» в ОГ средний балл составил ($16,37 \pm 1,8$), тогда как в ГС его значение было ($39,75 \pm 3,3$) ($p < 0,05$). По шкале «Запор» показатель в ОГ составил ($14,75 \pm 4,2$), а в ГС ($35,62 \pm 5,2$) – ($0,05 < p < 0,1$). Пациенты ГС чаще жаловались на наличие неустойчивого стула. Аппетит был более снижен в ГС: данный показатель составил ($24,15 \pm 6,0$) против ($18,12 \pm 5,4$) у пациентов ОГ, однако данный показатель статистически не достоверен ($p > 0,1$). Показатели шкал приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Сравнительная таблица оценки качества жизни в группах больных с колоректальным раком после операции (45-е сутки после операции)

EORTC QLQ-C30	Основная группа	Группа сравнения	Значение P
Глобальный статус здоровья	($66,37 \pm 3,6$)	($61,83 \pm 4,0$)	0,097

Окончание таблицы 4.2

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

Таким образом, в ходе исследования было установлено, что ЛДА, который заключается в предоперационном исследовании микрофлоры толстой кишки (методом ПЦР), выявлении пациентов с прогнозируемым высоким риском прогрессирования ДТК (исходя от наличия факторов риска), проведении предоперационной коррекции выявленных нарушений, показал высокую эффективность в лечении больных с КРР. Применение данного алгоритма позволило снизить частоту послеоперационных осложнений, а также оказало положительное влияние на качество жизни пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современной онкоколопроктологии частота послеоперационных осложнений находится в интервале 3–45 %. За последние 5 лет эти показатели сильно не меняются. К сожалению, не все авторы пользуются международными классификациями, что приводит к описанию только «больших» осложнений. Одним из значимых факторов развития послеоперационных осложнений является состояние кишечной микробиоты. Ведется множество дискуссий о целесообразности и способах предоперационной подготовки толстой кишки. Одни авторы утверждают, что необходимо использовать слабительные препараты перед оперативным лечением, тем самым снижая общую бактериальную массу. Другие говорят о негативном влиянии слабительных средств, которые снижают не только патогенную, но и облигатную флору. Многие исследователи уделяют большое внимание «внутрипросветным» антибактериальным препаратам, которые снижают количество патогенных и условно-патогенных бактерий, и рекомендуют проводить деконтаминацию всем пациентам в предоперационном периоде. Однако имеется мнение, что при отсутствии патогенной флоры и сниженной облигатной флоры антибактериальные препараты усугубляют имеющийся ДТК, тем самым провоцируя проявления послеоперационных осложнений, в частности, диареи. Имеются вопросы по интенсивности воздействия различных факторов (пол, возраст, антибактериальная терапия, локализация опухоли и т. д.), ухудшающих микрофлору толстой кишки. Все эти данные свидетельствуют о необходимости внедрения новых методов диагностики, определения факторов «риска», влияющих на микрофлору толстой кишки, прогнозирования ДТК и более дифференциального подхода к выбору лечебной тактики для каждого пациента.

Данное исследование было направлено на решение перечисленных проблем. Проспективно были отобраны 211 больных с опухолевым поражением ободочной кишки и верхнеампулярного отдела прямой кишки. Всем больным выполняли стандартный объем исследований согласно рекомендациям AOP (2011), RUSSCO (2013). Дополнительно выполняли анализ ПЦР кала («КОЛОНОФЛОР-16») для

оценки состояния микрофлоры толстой кишки за 10 суток до операции. Степень ДТК устанавливали согласно классификации кишечника в соответствии с Национальным руководством «Инфекционные болезни» (Москва, 2009 г.).

В исследование не включали пациентов, в анамнезе которых имелись хронические воспалительные заболевания толстой кишки, с наличием отдаленных метастазов и с проведенным неоадьювантным лечением.

Группу сравнения составили 163 пациента, среди них женщин – 102 (62,6 %), мужчин – 61 (37,4 %). Преобладали пациенты пожилого возраста (61,3 %). По локализации опухоли пациенты распределились следующим образом: у 30 (8,4 %) больных опухоль определялась в слепой кишке, в восходящей ободочной кишке – у 13 (8,0 %) больных, в печеночном изгибе – у 17 (10,4 %), в поперечной ободочной кишке – у 8 (4,9 %), в селезеночном изгибе – у 10 (6,2 %), в нисходящей ободочной кишке – у 7 (4,3 %), в сигмовидной кишке – у 17 (10,4 %), в ректосигмоидном отделе – у 23 (14,1 %) и в верхнеампулярном отделе прямой кишки – у 38 (23,3 %) пациентов.

По результатам анализа ПЦР кала у всех пациентов ГС выявлен ДТК. Изменения микрофлоры толстой кишки характеризовались количественными и качественными изменениями в составе условно-патогенной флоры, также отмечалось снижение облигатной микрофлоры, как изолированно, так и в совокупности с увеличением количества УПФ. ДТК I степени был выявлен у 93 (57,1 %) больных, II степени – у 54 (33,1 %) и III – у 16 (9,8 %) больных. У 87 (53,4 %) пациентов отмечалось высокое количество *Enterobacter spp.*, у 85 (52,1 %) отмечен рост *Escherichia coli enteropathogenic*, у 66 (40,5 %) – *Enterococcus spp.*, у 33 (20,2 %) – *Citrobacter spp.*, у 31 (19,0 %) – *Fusobacter spp.*, у 31 (19,0 %) – *Clostridium perfringens*, у 23 (14,1 %) пациентов выявлены бактерии *Klebsiella oxytoca*.

Уже на дооперационном этапе было отмечено, что у пациентов с локализацией опухоли в правом фланге степень ДТК была значительно выше, чем в группах пациентов с локализацией опухоли в левом фланге толстой кишки и прямой кишке. Больше половины пациентов имели II степень ДТК (51,6%), при

наличии III степени ДТК пациентов с правосторонней локализацией опухоли было больше в 4 раза, чем пациентов с левосторонней локализацией опухоли (21,0 % против 5,0 %).

Стенозирование просвета опухолью было отмечено у 34 (20,9 %) больных, в связи с чем данным пациентам проводили очистительные клизмы и назначали слабительные средства, а также соблюдение жидкой диеты. 22 (13,5 %) больным проводили антибактериальную терапию, так как имелись признаки паратуморозного инфильтрата.

Все пациенты были оперированы планово, лапароскопическим доступом, в стандартном объеме. Правосторонних гемиколэктомий было выполнено 62 (38,0 %), из них расширенных – 19 (11,6 %). Левосторонних гемиколэктомий было выполнено 23 (14,1 %), из них расширенных – 16 (9,8 %). Резекций сигмовидной кишки – 27 (16,6 %), передних резекций прямой кишки выполнено 51 (31,3 %).

В послеоперационном периоде анализ ПЦР кала выполняли на 10-е и 45-е сутки после операции. На 10-е сутки после операции анализ кала методом ПЦР показал, что практически у всех пациентов после операции прогрессировала степень ДТК. Число пациентов с *Clostridium difficile* увеличилось с 17 (10,4 %) до 72 (44,2 %). Выросло число больных с высоким уровнем *Klebsiella pneumoniae* – с 10 (6,1 %) до 35 (21,5 %) больных, *Klebsiella oxytoca* – с 23 (14,1 %) до 74 (45,4 %). В послеоперационном периоде преимущественно преобладали пациенты со II степенью ДТК – 88 (54,0 %). Выросло число пациентов с III степенью ДТК – с 16 (9,8 %) до 35 (21,5 %). Появилось 3 (4,9 %) больных с IV степенью ДТК. Ранние послеоперационные осложнения возникли у 39 (23,9 %) больных. Несостоятельность анастомоза диагностирована у 5 (3,1 %) больных, абсцесс брюшной полости и малого таза – также у 5 (3,1 %) пациентов, нагноение послеоперационной раны выявлено в 9 (5,5%) случаях. 21 (12,9 %) пациент предъявляли жалобы, характерные для толстокишечного дисбиоза, из них у 6 (3,7 %) были выявлены *Cl.difficile*. Послеоперационные хирургические осложнения оценивали по классификации хирургических осложнений Clavien –

Dindo: I степень выявлена у 28 (17,2 %) пациентов, II степень – у 2 (1,2 %), III степень – у 10 (6,1 %) больных.

Проведен многофакторный статистический анализ, при котором были выявлены пять значимых показателей, влияющих на прогрессирование ДТК: прием слабительных средств, наличие стенозирующей опухоли, применение антибактериальных препаратов, локализация опухоли в правых отделах толстой кишки, наличие исходного толстокишечного дисбиоза II–IV степени. Рассчитан коэффициент регрессии каждого фактора, который описывает размер вклада в общую оценку риска. Разработана модель оценки прогрессирования ДТК, основанная на расчетах уравнения логистической регрессии. Комплексная оценка риска прогрессирования ДТК для конкретного пациента зависит от всех значений всех показателей, входящих в данное уравнение.

ОГ (n=48) составили пациенты с высоким риском прогрессирования ДТК, рассчитанные по разработанной формуле. Данной группе пациентов применен разработанный ЛДА, который заключается в выполнении анализа кала методом ПЦР для оценки состояния микрофлоры толстой кишки. По разработанной формуле оценивается риск прогрессирования ДТК. При высоком риске прогрессирования ДТК проводится коррекция в течение 7 дней в зависимости от выявленных изменений (протокол ведения больных «Дисбактериоз кишечника», приказ № 231 Минздрава России от 09.06.2003 г., Москва). Для оценки эффективности ЛДА ретроспективно сформирована ГС (n=51) с высоким риском прогрессирования дисбиоза, которым было показано проведение предоперационной коррекции ДТК, однако коррекция не проводилась.

Пациенты ГС и ОГ были сопоставимы по возрасту, полу, локализации опухоли, объему оперативных вмешательств. В обеих группах отмечался ДТК. В ОГ, как и в ГС, преобладали пациенты со II степенью ДТК – 25 (52,1 %) и 19 (37,3 %) соответственно; с III степенью процент больных в обеих группах был практически одинаков: 17 (35,4 %) и 16 (31,4 %); с IV степенью ДТК – 2 (4,2 %) пациента ОГ и 2 (3,9 %) пациента ГС. Значительно отличался численный показатель пациентов с I степенью ДТК – 4 (8,3 %) больных ОГ против 14

(27,4 %) ГС. Пациентам ОГ проведена коррекция выявленных нарушений. В послеоперационном периоде картина ДТК крайне отличалась в двух группах. В ГС ДТК прогрессировал, значительно выросло число пациентов со II степенью ДТК – с 19 (37,3 %) до 26 (51,0 %); IV степенью ДТК – с 2 (3,9 %) до 6 (11,8 %). Снизилось число больных с I степенью ДТК – с 14 (27,4 %) до 4 (7,8 %). Число больных с III степенью ДТК практически не изменилось: 16 (31,4 %) в предоперационном и 15 (29,4 %) в послеоперационном периоде. В ОГ пациентов картина ДТК в послеоперационном периоде стала значительно лучше. Резко снизилось число больных с III степенью ДТК – с 17 (35,4 %) до 6 (12,5 %) человек. Увеличилось число больных с I степенью ДТК – с 4 (8,3 %) до 19 (39,6 %). Незначительно уменьшилось число больных со II степенью ДТК – с 25 (52,1 %) до 23 (47,9 %), отсутствовали пациенты с IV степенью ДТК. При сравнении двух групп было выявлено, что пациентов с I степенью значительно больше в ОГ – 19 (39,6 %), чем в ГС 4 (7,8 %), а пациентов с III степенью ДТК – 2 раза меньше: 6 (12,5 %) и 15 (29,4 %) соответственно. Пациентов с IV степенью в ОГ отсутствовали, в ГС их было 6 (11,8 %) человек.

Послеоперационные осложнения ОГ встречались значительно реже, чем в ГС: 5 (10,4 %) и 12 (23,5 %) соответственно. В ОГ у 1 (2,1 %) пациента диагностирована несостоятельность анастомоза, также у 1 (2,1 %) пациента выявлено нагноение послеоперационной раны. Трое (6,3 %) больных предъявляли жалобы, связанные с колитом, токсины *Cl.difficile* выявлены не были. В ГС несостоятельность анастомоза была у 1 (1,95 %) пациента, абсцесс брюшной полости был диагностирован также у 1 (1,95 %) пациента, нагноение послеоперационной раны – у 2 (3,9 %) больных. Колит клинически проявлялся у 7 (13,7 %) пациентов, из них бактерии? *Cl.difficile* выявлены у 2 (3,9 %). У 1 (1,95 %) больного отмечалось кровотечение из зоны анастомоза. При анализе хирургических осложнений по классификации Clavien – Dindo было выявлено, что осложнения II и III степени в двух группах значительно не отличались. Установлена значительная разница в осложнениях I степени: 4 (8,3 %) пациента ОГ и 9 (17,6 %) пациентов ГС.

Пациентам ОГ проведена дополнительная терапия, направленная на восстановление состояния микрофлоры толстой кишки в послеоперационном периоде с учетом выявленных нарушений. Пациенты ГС данную терапию не получали.

На 45-е сутки после оперативного вмешательства выполнен повторный анализ ПЦР кала для оценки микробиоценоза толстой кишки. Было отмечено, что для восстановления облигатной микрофлоры требуется длительное время, ДТК был отмечен практически у 90 % пациентов. В ОГ данные нарушения были незначительны, преобладали пациенты с I и II степенью ДТК – 23 (47,9 %) и 15 (31,2 %) соответственно. В ГС преобладали пациенты со II степенью ДТК – 28 (54,9 %) больных, выявлены пациенты с III и IV степенью ДТК – 7 (13,7 %) и 3 (5,9 %) соответственно. ДТК отсутствовал в ОГ у 8 (16,7 %) больных, в ГС таких пациентов было 2 (3,9 %).

Для оценки качества жизни использовали опросник EORTC QLQ-C30. Достоверных статистических различий среди показателей функциональных шкал выявлено не было, незначительно показатели ОГ были лучше ГС. Однако при оценке симптоматических шкал были отмечены существенные отличия. Шкала «Диарея» в ОГ составила $(16,37 \pm 1,8)$ против $(39,75 \pm 3,3)$ в ГС ($p < 0,05$). Значения по шкале «Запор» в ОГ и ГС составили $(14,75 \pm 4,2)$ и $(35,62 \pm 5,2)$ соответственно ($0,05 < p < 0,1$). Пациенты ГС чаще предъявляли жалобы, связанные с наличием ДТК. Данное исследование показало, что применение ЛДА значительно снижает частоту послеоперационных осложнений, пациенты меньше предъявляют жалобы, связанные с колитом. Данный алгоритм позволяет быстрее восстановить микрофлору толстой кишки, тем самым улучшая качество жизни.

ВЫВОДЫ

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

2. Основными факторами, способствующими прогрессированию изменений микрофлоры толстой кишки, являются прием слабительных и антибактериальных препаратов, локализация опухоли в правом фланге ободочной кишки, наличие опухолевого стеноза, исходный дисбиоз толстой кишки.

3. Предложенная модель оценки риска прогрессирования дисбиоза с использованием выделенных показателей обладает высокой степенью чувствительности – 90,55 %, специфичности – 91,67 % и диагностической точности – 91,00 %.

4. Разработанный лечебно-диагностический алгоритм включает в себя предоперационную оценку состояния микрофлоры, определение риска прогрессирования дисбиоза толстой кишки по разработанной формуле, проведение коррекции нарушений кишечной микрофлоры в предоперационном периоде при высоком риске его прогрессирования.

5. Эффективность предложенного лечебно-диагностического алгоритма подтверждена снижением уровня послеоперационных осложнений с 23,5 до 10,4 % и улучшением качества жизни пациентов в послеоперационном периоде.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выявления группы больных с высоким риском прогрессирования нарушений микробиоценоза толстой кишки в послеоперационном периоде рекомендуется использовать предложенную модель, которая обладает высокой чувствительностью и специфичностью и позволяет рутинно не проводить качественный и количественный состав кишечной микробиоты методом ПЦР.

2. Всем пациентам с высоким риском прогрессирования дисбиоза толстой кишки показано проведение предоперационной коррекции выявленных нарушений кишечной микрофлоры, которая в большинстве случаев заключается в назначении внутриспросветных антибактериальных препаратов и пре-, пробиотиков.

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

Перспективы разработки темы

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

Данная тема имеет перспективное значение для осуществления в будущем персонифицированного подхода профилактики осложнений при планировании хирургического лечения больных колоректальным раком.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВКС – видеокOLONоскопия.

ВЭГДС – видеоэзофагогастродуоденоскопия.

ГС – группа сравнения.

ДТК – дисбиоз толстой кишки.

КРР – колоректальный рак.

ЛД – лимфодиссекция.

ЛДА – лечебно-диагностический алгоритм.

ЛУ – лимфатический узел.

МРТ – магнитно-резонансная томография.

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография.

ОГ – основная группа.

ПЦР – полимеразная цепная реакция.

СБР – суммарный балл риска.

УЗИ – ультразвуковое исследование.

ЦНС – центральная нервная система.

ЭхоКГ – эхокардиография.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Афанасьева З. А., Старостина М. А., Губаева М. С. и др.* Биоценоз кишечника у больных колоректальным раком / З. А. Афанасьева, М. А. Старостина, М. С. Губаева [и др.] // *Практ. мед.* – 2012. – № 12. – С. 97–99.
2. *Бондаренко, В. М.* Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром : современное состояние проблемы / В. М. Бондаренко, Т. В. Мацулевич. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.
3. *Жуков, В. И.* Особенности микробиоценоза кишечника у больных колоректальным раком / В. И. Жуков, С. В. Перепадя, О. В. Зайцева [и др.] // *Пробл. мед.* – 2010. – № 1. С. 8–9.
4. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М. : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. – 250 с.
5. *Куликов, Е. П.* Различные хирургические подходы к лечению больных распространенным раком толстой кишки / Е. П. Куликов, И. Д. Бубликов, Е. Ю. Головкин, Е. И. Семионкин // *Онкохирургия.* – 2011. – Т. 3, № 4. – С. 29–32.
6. *Привалова, Т. Ю.* Микрoэкологический дисбаланс толстой кишки у больных колоректальным раком пожилого и старческого возраста : текст науч. ст. по спец. «Клиническая медицина». С. 77–81 / Т. Ю. Привалова. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikroekologicheskiy-disbalans-tolstoy-kishki-u-bolnyh-kolorektalnym-rakom-pozhilogo-i-starcheskogo-vozrasta/viewer> (дата обращения: 18.02.2020).

7. *Ткач, С. М.* Кишечная микробиота в норме и при патологии. Современные подходы к диагностике и лечению кишечного дисбиоза / С. М. Ткач, К. С. Пучков, А. К. Сизенко. – Киев : Твиса ЛТД, 2014. – 149 с.
8. Характеристика микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека / В. М. Коршунов, Б. А. Ефимов, Л. И. Кафарская, Н. Н. Володин // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2002. – № 5. – С. 98–104.
9. *Abbulamir, A. S.* Molecular detection, quantification, and isolation of *Streptococcus gallolyticus* bacteria colonizing colorectal tumors: inflammation-driven potential of carcinogenesis via IL-1, COX-2, and IL-8 / A. S. Abbulamir, R. R. Hafidh, F. A. Bakar // *Molecular Cancer*. – 2010. – Vol. 17, No. 9. – P. 249. Doi: 10.1186/1476-4598-9-249.
10. *Ahn, J.* Human gut microbiome and risk for colorectal cancer / J. Ahn, R. Sinha, Z. Pei [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2013. – Vol. 105. – P. 1907–1911.
11. *Aries, V.* Bacteria and aetiology of cancer of the large bowel / V. Aries, J. S. Crowther, B. S. Drasar [et al.] // *Gut*. – 1969. – Vol. 10. – P. 334–335.
12. *Arnold, M.* Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality / M. Arnold, M. S. Sierra, M. Laversanne [et al.] // *Gut*. – 2017. – Vol. 66, No. 4. – P. 683–691.
13. *Arthur, J. C.* Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota // J. C. Arthur, E. Perez-Chanona, M. Muhlbauer [et al.] // *Science*. – 2012. – Vol. 338, No. 6103. – P. 120–123.
14. *Backhed, F.* Host-bacterial mutualism in the human intestine / F. Backhed, R. E. Ley, J. L. Sonnenburg [et al.] // *Science*. – 2005. – Vol. 307, No. 5717. – P. 1915–1920. Doi: 10.1126/science.1104816.
15. *Balamurugan, R.* Real time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate producing bacteria, *Desulfovibrio* and *Enterococcus faecalis* in the feces of patients with colorectal cancer / R. Balamurugan, E. Rajendiran, S. George [et al.] // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. – 2008. – Vol. 23, No. 8pt1. – P. 1298–1303.

16. *Bengmark, S.* Econutrition and health maintenance – a new concept to prevent GI inflammation, ulceration and sepsis / S. Bengmark // *Clin. Nutr.* – 1996. – Vol. 15. – P. 1–10.
17. *Boleij, A.* Bacterial Responses to a Simulated Colon Tumor Microenvironment / A. Boleij, B. E. Dutilh, G. A. M. Kortman [et al.] // *Molecular & Cellular Proteomics.* – 2012. – Vol. 11, No. 10. – P. 851–862.
18. *Boleij, A.* The itinerary of *Streptococcus gallolyticus* infection in patients with colonic malignant disease / A. Boleij, H. Tjalsma // *Lancet Infect Dis.* – 2013. – Vol. 13, № 8. – P. 719–724.
19. *Bonnet, Mathilde.* Colonization of the human gut by *E. coli* and colorectal cancer risk / Mathilde Bonnet, Emmanuel Buc, Sauvanet Pierre [et al.] // *Clinical Cancer Research.* – 2014. – Vol. 15, No 20 (4). – P. 859–867. Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1343.
20. *Bray, F.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2018. – Vol. 68, No. 6. – P. 394–424.
21. *Bullman, S.* Analysis of *Fusobacterium* persistence and antibiotic response in colorectal cancer / S. Bullman, C. S. Peadarallu, E. Sicinska [et al.] // *Science.* – 2017. – Vol. 358, No. 6369. – P. 1443–1448.
22. *Castellarin, M.* *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma / M. Castellarin, R. L. Warren, J. D. Freeman [et al.] // *Genome Research.* – 2012. – Vol. 22. – P. 299–306.
23. *Chang, J. H.* Effect of *Lactobacillus acidophilus* KFRI342 on the development of chemically induced precancerous growths in the rat colon / J. H. Chang, Y. Y. Shim, S. K. Cha [et al.] // *J. Med. Microbiol.* – 2012. – Vol. 61, No. 3. – P. 361–368.
24. *Chew, S. S.* *Clostridium septicum* and malignancy / S. S. Chew, D. Z. Lubowski // *ANZ J. Surg.* – 2001. – Vol. 71, No. 11. – P. 647–649.

25. *Chopra, T.* Clostridium difficile infection in cancer patients and hematopoietic stem cell transplant recipients / T. Chopra, G. J. Alangaden, P. Chandrasekar // Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2010. – Vol. 8, No. 10. – P. 1113–1119.
26. *Clark, C. R.* Mouse models for the discovery of colorectal cancer driver genes / C. R. Clark, T. K. Starr // World J. Gastroenterol. – 2016. – Vol. 22, No. 2. – P. 815–822.
27. *Cohen, S. H.* Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) / S. H. Cohen, D. N. Gerding, S. Johnson [et al.]; Society for Healthcare Epidemiology of America, Infectious Diseases Society of America // Infect. Control. Hosp. Epidemiol. – 2010. – Vol. 31, No. 5. – P. 431–455.
28. *Cohen, S. H.* Society for Healthcare Epidemiology of America, Infectious Diseases Society of America / S. H. Cohen, D. N. Gerding, S. Johnson // Infect. Control Hosp. Epidemiol. – 2010. – Vol. 31, No. 5. – P. 431–455.
29. *D'Amico, R.* Effectiveness of antibiotic prophylaxis in critically ill adult patients : systematic review of randomised controlled trials / R. D'Amico, S. Pifferi, C. Leonetti [et al.] // BMJ. – 1998. – Vol. 316. – P. 1275–1285.
30. *Dahmus, J. D.* The gut microbiome and colorectal cancer : a review of bacterial pathogenesis / J. D. Dahmus, D. L. Kotler, D. M. Kastenber [et al.] // J. Gastrointest. Oncol. – 2018. – Vol. 9, No. 4. – P. 769–777.
31. *Deitch, E. A.* Role of the gut lymphatic system in multiple failure / E. A. Deitch // Curr. Opin. Crit. Care. – 2001. – Vol. 7. – P. 92–98.
32. *Dejea, C. M.* Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers / C. M. Dejea, E. C. Wick, E. M. Hechenbleikner [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 2014. – Vol. 111, No. 51. – P. 18321–18326.
33. *Del Carmen, S.* Anti-cancer effect of lactic acid bacteria expressing antioxidant enzymes or IL-10 in a colorectal cancer mouse model / S. Del Carmen, A. de Moreno de LeBlanc, R. Levit [et al.] // Int. Immunopharmacol. – 2017. – Vol. 42. – P. 122–129.

34. *Dong, L.* Toll-like receptor 2 monoclonal antibody or/and Toll-like receptor 4 monoclonal antibody increase counts of Lactobacilli and Bifidobacteria in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice / L. Dong, J. Li, Y. Liu [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2012. – Vol. 27, No. 1. – P. 110–119.
35. *Ellmerich, S.* Promotion of intestinal carcinogenesis by *Streptococcus bovis* / S. Ellmerich, M. Schöller, B. Durantou [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2000. – Vol. 21, No. 4. – P. 753–756.
36. *Evrard, B.* Dose-dependent immunomodulation of human dendritic cells by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 / B. Evrard, S. Coudeyras, A. Dosgilbert [et al.] // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, No. 4. – P. e18735.
37. *Fallingborg, J.* Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract / J. Fallingborg // *Dan. Med. Bull.* – 1999. – Vol. 46, No. 3. – P. 183–196.
38. *Fa-Si-Oen, P.* Mechanical bowel preparation or not? Outcome of a multicenter, randomized trial in elective open colon surgery / P. Fa-Si-Oen, R. Roumen, J. Buitenweg [et al.] // *Dis. Colon. Rectum.* – 2005. – Vol. 48. – P. 1509–1516.
39. *Flint, H. J.* The role of the gut microbiota in nutrition and health / H. J. Flint, K. P. Scott, P. Louis [et al.] // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* – 2012. – No. 9 (10). – P. 577–589. Doi: 10.1038/nrgastro.2012.156.
40. Food and Agriculture Organization and World Health Organization Expert Consultation. Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk and Live Lactic Acid Bacteria [online] / Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. – Córdoba, Argentina, 2001. URL: <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/Meeting/009/y6398e.pdf> (дата обращения: 08.09.2019).
41. *Forrester, J.* Nontraumatic *Clostridium septicum* Myonecrosis in Adults : Case Report and a 15-Year Systematic Literature Review / J. Forrester, E. Shkolyar, D. Gregg [et al.] // *Infect. Dis. Clin. Pract.* – 2016. – Vol. 24, No. 6. – P. 318–323.
42. *Fridlender, Z. G.* Tumor-associated neutrophils: friend or foe? / Z. G. Fridlender, S. M. Albelda // *Carcinogenesis.* – 2012. – Vol. 33, No. 5. – P. 949–955.

43. *Gamallat, Y.* Lactobacillus rhamnosus induced epithelial cell apoptosis, ameliorates inflammation and prevents colon cancer development in an animal model // Y. Gamallat, A. Meyiah, E. D. Kuugbee [et al.] // Biomed. Pharmacother. – 2016. – Vol. 83. – P. 536–541.
44. *Gur, C.* Binding of the Fap2 protein of Fusobacterium nucleatum to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack / C. Gur, Y. Ibrahim, B. Isaacson [et al.] // Immunity. – 2015. – Vol. 42, No. 2. – P. 344–355.
45. *Hamer, H. M.* Review article: the role of butyrate on colonic function / H. M. Hamer, S. D. Jonker, K. Venema // Aliment Pharmacol. Ther. – 2008. – Vol. 15, No. 27 (2). – P. 104–119. Doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x.
46. *Hammond, S. P.* Clinical characteristics and outcomes of clostridial bacteraemia in cancer patients / S. P. Hammond, M. W. Buckley, G. Petruzzello [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2014. – Vol. 20. – P. 752–757.
47. *Hill, M. J.* Bacteria and aetiology of cancer of the large bowel / M. J. Hill, B. S. Drasar, G. Hawksworth [et al.] // Lancet. – 1971. – Vol. 1, No. 7690. – P. 95–100.
48. *Horvat, M.* Preoperative synbiotic bowel conditioning for elective colorectal surgery / M. Horvat, B. Krebs, S. Potrc [et al.] // Wien. Klin. Wochenschr. – 2010. – Vol. 122, No. 2. – P. 26–30.
49. *Huycke, M. M.* Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models / M. M. Huycke, H. R. Gaskins // Infect. Dis. Clin. North Am. – 2004. – Vol. 21. – P. 265–282.
50. *Johnson, C. H.* Metabolism links bacterial biofilms and colon carcinogenesis / C. H. Johnson, C. M. Dejea, D. Edler [et al.] // Cell. Metab. – 2015. – Vol. 21, No. 6. – P. 891–897.
51. *Kennedy, C. L.* The alpha-toxin of Clostridium septicum is essential for virulence / C. L. Kennedy, E. O. Krejany, L. F. Young [et al.] // Mol. Microbiol. – 2005. – Vol. 57, No. 5. – P. 1357–1366.

52. *Kipanyula, M. J.* Signaling pathways bridging microbial-triggered inflammation and cancer // M. J. Kipanyula, P. F. Seke Etet, L. Vecchio [et al.] // *Cell Signal.* – 2013. – Vol. 25, No. 2. – P. 403–416.
53. *Klein, R. S.* Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon / R. S. Klein, R. A. Recco, M. T. Catalano [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1977. – Vol. 297, No. 15. – P. 800–802.
54. *Koropatkin, N. M.* How Glycan Metabolism Shapes the Human Gut Microbiota / N. M. Koropatkin, E. A. Cameron, E. C. Martens // *Nature Reviews Microbiology.* – 2012. – Vol. 10. – P. 323–335.
55. *Kostic, A. D.* *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment / A. D. Kostic, E. Chun, L. Robertson [et al.] // *Cell. Host. Microbe.* – 2013. – Vol. 14, No. 2. – P. 207–215.
56. *Kostic, A. D.* Genomic analysis identifies association of *fusobacterium* with colorectal carcinoma / A. D. Kostic, D. Gevers, C. S. Pédamallu [et al.] // *Genome Research.* – 2012. – Vol. 22. – P. 292–298.
57. *Kotzampassi, K.* A Four-Probiotics Regimen Reduces Postoperative Complications After Colorectal Surgery : A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study / K. Kotzampassi, G. Stavrou, G. Damoraki [et al.] // *World J. Surg.* – 2015. – Vol. 39, No. 11. – P. 2776–2783.
58. *Kuugbee, E. D.* Structural Change in Microbiota by a Probiotic Cocktail Enhances the Gut Barrier and Reduces Cancer via TLR2 Signaling in a Rat Model of Colon Cancer // E. D. Kuugbee, X. Shang, Y. Gamallat [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2016. – Vol. 61, No. 10. – P. 2908–2920.
59. *Lee, H. A.* Dead Nano-Sized *Lactobacillus plantarum* Inhibits Azoxymethane/Dextran Sulfate Sodium-Induced Colon Cancer in Balb/c Mice / H. A. Lee, H. Kim, K. W. Lee, K. Y. Park // *J. Med. Food.* – 2015. – Vol. 18, No. 12. – P. 1400–1405.
60. *Ley, R. E.* Microbial ecology : human gut microbes associated with obesity / R. T. Ley, P. J. Turnbaugh, S. Klein [et al.] // *Nature.* – 2006. – Vol. 21, No. 444 (7122). – P. 1022–1023. Doi: 10.1038/4441022a.

61. *Maddocks, O. D. K.* Attaching and effacing *Escherichia coli* downregulate DNA mismatch repair protein in vitro and are associated with colorectal adenocarcinomas in humans / O. D. K. Maddocks, A. J. Short, M. S. Donnenberg [et al.] // PLoS One. – 2009. – Vol. 4, No. 5. – P. e5517.
62. *Matjaž, Horvat.* Preoperative synbiotic bowel conditioning for elective colorectal surgery / Horvat Matjaz [et al.] // Wien. Klin. Wochenschr. – 2010. – No. 122, Suppl. 2. – P. 26–30. Doi: 10.1007/s00508-010-1347-8.
63. *Mayo, S. C.* Surgical management of patients with synchronous colorectal liver metastasis : a multicenter international analysis / S. C. Mayo, C. Pulitano, H. Marques [et al.] // J. Am. Coll. Surg. – 2013. – Vol. 216, No. 4. – P. 707–716.
64. *McCoy, A. N.* Fusobacterium is associated with colorectal adenomas / A. N. McCoy, F. Araujo-Perez, A. Azcarate-Peril [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8. – P. e53653.
65. *Platell, C.* What is the role of mechanical bowel preparation in patients undergoing colorectal surgery? / C. Platell, J. Hall // Dis. Colon. Rectum. – 1998. – Vol. 41. – P. 875–882.
66. *Prakash, S.* Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics / S. Prakash, L. Rodes, M. Coussa-Charley [et al.] // Biologics. – 2011. – No. 5. – P. 71–86. Doi: 10.2147/BTT.S19099.
67. *Rafter, J.* Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients / J. Rafter, M. Bennett, G. Caderni [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2007. – Vol. 85, No. 2. – P. 488–496.
68. *Rayes, N.* Early enteral supply of fiber and lactobacilli versus conventional nutrition : a controlled trial in patients with major abdominal surgery / N. Rayes, S. Hansen, D. Seehofer [et al.] // Nutrition. – 2002. – Vol. 18. – P. 609–615.
69. *Rubinstein, M. R.* Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin / M. R. Rubinstein, X. Wang, W. Liu [et al.] // Cell. Host. Microbe. – 2013. – Vol. 14, No. 2. – P. 195–206.

70. *Ryder, A. B.* Assessment of *Clostridium difficile* infections by quantitative detection of tcdB toxin by use of a real-time cell analysis system / A. B. Ryder, Y. Huang, H. Li [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2010. – Vol. 48, No. 11. – P. 4129–4134.
71. *Salminen, S.* Functional food science and gastrointestinal physiology and function / S. Salminen, C. Bouley, M. C. Boutron-Ruault [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 1998. – Vol. 80, Suppl. 1. – P. S147–S171.
72. *Siegel, R. L.* Cancer statistics, 2019 / R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal // *CA Cancer J. Clin.* – 2019. – Vol. 69, No. 1. – P. 7–34.
73. *Swidsinski, A.* Association between intraepithelial *Escherichia coli* and colorectal cancer / A. Swidsinski, M. Khilkin, D. Kerjaschki [et al.] // *Gastroenterology.* – 1998. – Vol. 115, No. 2. – P. 281–286.
74. *Tlaskalova-Hogenova, H.* The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer : contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases / H. Tlaskalova-Hogenova, R. Stěpankova, H. Kozakova [et al.] // *Cell. Mol. Immunol.* – 2011. – Vol. 8, No. 2. – P. 110–120. Doi: 10.1038/cmi.2010.67.
75. *Turnbaugh, P. J.* The human microbiome project / P. J. Turnbaugh, E. Ley, M. Hamady [et al.] // *Nature.* – 2007. – Vol. 449, No. 7164. – P. 804–810.
76. *Toprak, Ulger N.* A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer / N. Ulger Toprak, A. Yagci, B. M. Gulluoglu [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2006. – Vol. 12, No. 8. – P. 782–786. Doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01494.x.
77. *Verdecchia, A.* Recent cancer survival in Europe : a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data / A. Verdecchia, S. Francisci, H. Brenner [et al.] ; EURO CARE-4 Working Group // *Lancet Oncol.* – 2007. – Vol. 8, No. 9. – P. 784–796.
78. *Verma, A.* Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* suppresses DMH-induced procarcinogenic fecal enzymes and preneoplastic

- aberrant crypt foci in early colon carcinogenesis in Sprague Dawley rats / A. Verma, G. Shukla // *Nutr. Cancer.* – 2013. – Vol. 65, No. 1. – P. 84–91.
79. *Vincent, J. L.* Nosocomial infections in adult intensive care units / J. L. Vincent // *Lancet.* – 2003. – Vol. 361. – P. 2068–2077.
80. *Walter, J.* The human gut microbiome : ecology and recent evolutionary changes / J. Walter, R. Ley // *Annu Rev. Microbiol.* – 2011. – No. 65. – P. 411–429. Doi: 10.1146/annurev-micro-090110-102830.
81. *Watkinson, P. J.* The use of pre-, pro- and synbiotics in adult intensive care unit patients : systematic review / P. J. Watkinson, V. S. Barber, P. Dark, J. D. Young // *Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 26. – P. 182–192.
82. *Wong, S. H.* Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications / S. H. Wong, J. Yu // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2019. – Vol. 16. – P. 690–704.
83. *Wu, N.* Dysbiosis signature of fecal microbiota in colorectal cancer patients / N. Wu, X. Yang, R. Zhang [et al.] // *Microb. Ecol.* – 2013. – Vol. 66. – P. 462–470.
84. *Yu, T.* *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy / T. Yu, F. Guo, Y. Yu [et al.] // *Cell.* – 2017. – Vol. 170, No. 3. – P. 548–563.e16.
85. *Zhang, M.* Effects of *Lactobacillus salivarius* Ren on cancer prevention and intestinal microbiota in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat model / M. Zhang, X. Fan, B. Fang [et al.] // *J. Microbiol.* – 2015. – Vol. 53, No. 6. – P. 398–405.
86. *Zhu, J.* *Lactobacillus salivarius* Ren prevent the early colorectal carcinogenesis in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat model / J. Zhu, C. Zhu, S. Ge [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* – 2014. – Vol. 117, No. 1. – P. 208–216.