

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ХІРУРГІЇ ТА
ТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ імені О. О. ШАЛІМОВА»**

ХОМЕНКО ДМИТРО ІВАНОВИЧ

УДК: 616.37–089–085.832

**ОПТИМІЗАЦІЯ МЕТОДУ КРІОФІКСАЦІЇ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ
ЛІКУВАННІ ПАЦІЄНТІВ З НЕЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ
ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ**

14.01.03 «Хірургія»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця МОЗ України

Науковий керівник доктор медичних наук, професор
Дронов Олексій Іванович,
Національний медичний університет
імені О. О. Богомольця МОЗ України,
завідувач кафедри загальної хірургії № 1

Офіційні опоненти: доктор медичних наук,
старший науковий співробітник
Литвиненко Олександр Миколайович,
Державна установа «Національний інститут хірургії та
трансплантології імені О. О. Шалімова»
НАМН України,
провідний науковий співробітник відділу хірургії
підшлункової залози та реконструктивної хірургії
жовчовивідних проток

доктор медичних наук, професор,
Сипливий Василь Олексійович,
Харківський національний медичний
університет МОЗ України,
завідувач кафедри загальної хірургії № 2

Захист відбудеться «19» квітня 2019 р. о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.561.01 у Державній установі «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30.

Автореферат розісланий «18» березня 2019 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор медичних наук



О. С. Тивончук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. До групи незапальних захворювань підшлункової залози (Сусак Я. М., 2004) відносять одне з найнебезпечніших – рак підшлункової залози, що являється четвертою серед найбільш поширених причин смертності від злоякісних новоутворень в світі (Kommalapati A., 2018).

Очікувана захворюваність на рак підшлункової залози за прогнозами (Smith B. D. et al., 2014) до 2030 року збільшиться на 55 %. За прогнозами Rahib L., в США до 2030 року рак підшлункової залози стане другою провідною причиною смертності від злоякісних новоутворень. Резектабельність злоякісних пухлин підшлункової залози складає за різними джерелами від 10 до 25 % (Benassai G. et al., 2015; Mahipal A. et al., 2015; Kommalapati A. et al., 2018).

Протягом останніх десятиліть навіть після радикального хірургічного лікування резектабельного раку підшлункової залози віддалені результати лікування залишаються вкрай невтішними (Литвиненко О. М., 1992; Сипливый В. А., 2003), так як показник 5-річної виживаності пацієнтів, яким все ж вдається виконати радикальне хірургічне втручання, перевищує 5–6 % лише у провідних спеціалізованих центрах (Picozzi V. J. et al., 2017; He L. et al., 2017; Siegel R. L. et al., 2017). Це пов'язано з тим, що у 65–85 % радикально оперованих хворих на рак підшлункової залози в перші 2 роки після оперативного лікування розвивається локальний рецидив або виявляються віддалені метастази, перитонеальна дисемінація (Strobel O. et al., 2013; Castellanos J. A., Merchant N. B., 2014; Frei L. et al., 2017; Lee J. C. et al., 2018). Однією з причин незадовільних віддалених результатів радикального хірургічного лікування хворих на рак підшлункової залози ряд авторів пов'язують з інтраопераційною дисемінацією пухлинних клітин внаслідок пальпаторно-тракційних маніпуляцій з пухлиною на етапі її мобілізації (Nomoto S. et al., 1996; Uchikura K. et al., 2002; Hirota M. et al., 2005; Лядов К. В. и соавт., 2011; Дронов О. І. та співав., 2013; Hirota M., Ogawa M., 2014; Steen W. et al., 2016; Lyadov V. K., Milovanov V. V., 2016; Kuroki T., Eguchi S., 2017).

Актуальним є пошук методів та способів практичної реалізації запобігання дисемінації злоякісних пухлинних клітин під час виконання радикальних оперативних втручань на підшлунковій залозі (Hirota M. et al., 2005; Hirota M., Ogawa M., 2014; Lyadov V. K., 2016; Kuroki T., Eguchi S., 2017).

Поліпшити показники радикального хірургічного лікування хворих на рак підшлункової залози ряд вчених пов'язують із застосуванням кріохірургічних технологій (Литвиненко О. О., 1994, Патютко Ю. И., 2007; Ханевич М. Д., 2017), а саме – кріофіксацією пухлини підшлункової залози (Дронов А. И., 2017). Методу властиві абластичний та антибластичний ефекти. Абластичний ефект кріовпливу пов'язаний із здатністю низькотемпературної дії спричиняти тромбоз артерій до 2,5 мм та вен до 6 мм у діаметрі та некроз судин малого діаметру: артеріол, капілярів, тим самим виключаючи локальний пухлинний кровоток (Литвиненко О. О., 1994; Данилов М. В. и соавт., 1995). Антибластичний ефект локальної кріодії пов'язаний з механізмами індукції деструкції пухлинних клітин (Ханевич М. Д., 2017).

Основним недоліком кріоабляції пухлин підшлункової залози є неповна деструкція клітин в пограничній зоні, де важко досягти температур в діапазоні

мінусових значень (Ху К., 2013).

Тому метод криофіксації солідних резектабельних пухлин підшлункової залози потребує оптимізації шляхом розробки методу інтраопераційного контролю показників температури на дискретних глибинах в пухлині та ефективного способу криопотенціювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри загальної хірургії №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України «Застосування криохірургічних технологій в комплексному лікуванні пухлин гепатопанкреатодуоденальної зони» (номер державної реєстрації 0116U004901; 2016–2018 рр.)

Мета та завдання дослідження. Мета дисертаційного дослідження – покращення результатів хірургічного лікування хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози шляхом удосконалення методу криофіксації.

Для досягнення поставленої мети вирішували наступні завдання:

1. Розробити спосіб контролю показників температури на фіксованій глибині (3, 8, 13 та 18 мм) від робочої поверхні криоаплікатора під час проведення криофіксації резектабельної пухлини підшлункової залози та оцінити значення отриманих температур в залежності від локалізації пухлини відносно проксимального та дистального відділів залози.

2. Визначити морфологічні зміни фіксованих точок у пухлині, що піддавалась криофіксації, та встановити кореляційний зв'язок між цими змінами та температурним градієнтом.

3. Визначити діагностичну значимість цитологічного, імуноцитохімічного методів в ідентифікації циркулюючих пухлинних клітин в крові та ізольованих пухлинних клітин у перитонеальних змивах і методу полімеразної ланцюгової реакції в ідентифікації циркулюючої пухлинної дезоксирибонуклеїнової кислоти у хворих на резектабельний рак підшлункової залози.

4. Удосконалити відомі та розробити нові методи потенціювання впливу низьких температур на пухлинну тканину в експерименті та клініці.

5. Оцінити результати застосування розробленого методу криофіксації при хірургічному лікуванні пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози.

Об'єкт дослідження – незапальні захворювання підшлункової залози, дистильована H_2O , 36 % $NaCl$, 0,9 % $NaCl$, перевита карцинома Герена білим безпородним щурам, печінка свині.

Предмет дослідження – метод криодії на біологічну тканину.

Методи дослідження: клінічні, лабораторні, інструментальні, променеві, морфологічні, імунологічні, молекулярно-генетичні, фізичні спеціальні методи, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено спосіб контролю показників температури на дискретних глибинах від робочої поверхні криоаплікатора з набору універсальної криохірургічної установки «Кріо-Пульс» в біологічній тканині у фіксованих точках під час процесу локальної криодії в експерименті, та криофіксації в клініці, шляхом застосування мідь-константанових термопар Т-типу довжиною

3, 8, 13 та 18 мм (патент на корисну модель України №116730, 2017 р.).

Вперше в експерименті, на моделях *in vitro* та *in vivo*, було обґрунтовано ефективність застосування попереднього введення в біологічну тканину дистильованої H_2O з метою потенціювання локальної кріодії: встановлено достатню мінімальну тривалість часу експозиції, від моменту введення в біологічну тканину дистильованої H_2O , до початку процесу локальної кріодії, що склала 5 хв; розроблено формулу розрахунку об'єму дистильованої H_2O , що потрібно ввести в солідну пухлину з метою кріопотенціювання ($V_{д.в.} = V_{п.х} \cdot 0,38$); вперше методом цитоморфометричного аналізу встановлено, що через 5 хв після введення в пухлинну тканину дистильованої H_2O площа поперечного січення клітин збільшується не менше ніж в 3,4 рази за рахунок осмотичного набряку.

Вперше було встановлено значення масивного теплоприведення від магістральних судин в проекції задньої поверхні головки підшлункової залози, як чинника, що погіршує ефективність кріофіксації подвійним циклом резектабельних солідних злоякісних пухлин проксимального відділу.

Розроблено ефективну методику потенціювання процесу кріофіксації дистильованою H_2O резектабельних солідних злоякісних пухлин, при хірургічному лікуванні хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози (Патент на корисну модель України № 119932, 2017 р.), що дозволило отримати середні температури в діапазоні мінусових значень в кінці 10-ї хв другого циклу заморозки, які в $(2,1 \pm 0,2)$ рази перевищують значення температур, де кріопотенціювання не застосовували – при локалізації пухлини в проксимальному відділі підшлункової залози, та в $(1,85 \pm 0,24)$ рази – при локалізації пухлини в дистальному відділі підшлункової залози.

Практичне значення одержаних результатів. Оптимізація методу кріофіксації, шляхом розробки та впровадження в клінічну практику нового, ефективного способу кріопотенціювання, що полягає в попередньому введенні в солідну злоякісну резектабельну пухлину підшлункової залози дистильованої H_2O за 5 хв до початку локальної кріодії кріоаплікатором \varnothing 30 мм з набору універсальної кріохірургічної установки «Кріо-Пульс» подвійним циклом зі спонтанним періодом відтавання після кожного періоду заморозки дозволяє достовірно збільшити показник кумулятивної виживаності хворих в термін спостереження 18 місяців до 74,7 %, що на 32,5 % перевищує відповідний показник в групі хворих, де виконувалась лише радикальна резекція підшлункової залози та на 25,2 % більше, де було застосовано кріофіксацію пухлини підшлункової залози з послідуною резекцією без потенціювання дистильованою H_2O на рівні значущості ($\chi^2 = 7,35$; $p = 0,025$).

Особистий внесок здобувача. Всі розділи дисертації написані автором самостійно. Дисертантом особисто виконано всі етапи експериментальної частини дослідження на базі Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України. Автор брав участь у проведенні 60 % оперативних втручань, включених в дослідження хворих. Проводив лікувально-діагностичний алгоритм у хворих, що залучались в дослідження проспективно. Дисертантом, на основі аналізу історій хвороб з архіву Київської міської клінічної лікарні № 10 в період з 2010 по 2017 рр., сформовано електронну базу даних

97 пацієнтів, включених в дослідження. За участю наукового керівника здійснено планування етапів дослідження, обговорення результатів та формулювання висновків.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації викладені та обговорені на International scientific conference «Integrated clinical and pathogenetic approaches in diagnosis and therapy of cancer» (м. Київ, 2016 р.); 40-ва ювілейній науково-практичній конференції молодих вчених Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвяченій «Дню науки» «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (м. Київ, 2017 р.); Підсумковій LX науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвячена 60-річчю Тернопільського державного медичного університету (м. Тернопіль, 2017 р.); XXIV міжнародному конгресі асоціації гепато-панкреатобилиарних хірургів стран СНГ «Актуальные проблемы гепато-панкреатобилиарной хирургии» (м. Санкт-Петербург, 2017 р.); 19-th World Congress of International Society of Cryosurgery (Lithuania, Kaunas, 2017 р.); 68th Congress of the Association of Polish Surgeons (Cracow, 2017 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць, з яких 3 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 4 статті у наукових виданнях інших держав, 6 тез наукових доповідей, 2 патенти на корисну модель України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 240 сторінках і складається з анотацій, вступу, шести розділів, висновків, аналізу та узагальнення результатів дослідження, списку використаних джерел та додатків. Основний текст містить 26 таблиць та 66 рисунків. Список цитованої літератури включає 171 джерело (з них 108 латиницею).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ПРОБЛЕМИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ З НЕЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ (огляд літератури)

В розділі представлено епідеміологічні показники захворюваності та смертності одного з найнебезпечніших запальних захворювань підшлункової залози – раку підшлункової залози. Наведено детальну характеристику сучасних методів абляції пухлин підшлункової залози, переваги та недоліки кожного з методів; перевагу та безпечність методу кріоабляції солідних пухлин підшлункової залози. Представлено короткий історичний екскурс становлення кріохірургії в Україні та світі. Розглянуто механізми кріодеструкції пухлинних клітин та відомі методи потенціювання локальної кріодії на біологічну тканину.

Показано, що однією з основних причин незадовільних віддалених результатів радикального хірургічного лікування хворих на рак підшлункової залози є інтраопераційна дисемінація пухлинних клітин, внаслідок пальпаторно-тракційних маніпуляцій з пухлиною на етапі мобілізації комплексу. Наведено перспективи застосування та шляхи оптимізації методу кріофіксації при радикальному хірургічному лікуванні хворих на рак підшлункової залози.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Характеристика експериментальної частини дослідження. Метою експериментального дослідження була розробка ефективного методу потенціювання локальної кріодії на солідну злоякісну пухлину. Дослідження виконувались на базі Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України (м. Київ) у *чотири етапи*.

На *першому етапі* експериментальної частини дослідження вивчали динаміку змін температури на дискретних глибинах, розмірів (висота, діаметр) та об'єму льодяної кулі (*ice-ball*) у гіпотонічному (дистильована H_2O), фізіологічному (0,9 % NaCl) та насиченому гіпертонічному (36 % NaCl) розчині під час локальної кріодії.

Для заморозки використовували установку кріохірургічну універсальну «Кріо-Пульс», виробництва Товариства з обмеженою відповідальністю Науково-виробнича фірма «Пульс» (м. Київ). Застосовували кріоаплікатор діаметром 20 мм, з температурою на робочій його поверхні $-180^{\circ}C$; час експозиції кріодії – 10 хв. Температуру в розчинах під час формування льодяної кулі на дискретних глибинах від поверхні кріоаплікатора реєстрували в режимі реального часу за допомогою мідь-константанових термопар Т-типу фіксованої довжини: Т1 довжиною 3 мм, Т2 – 8 мм, Т3 – 13 мм та Т4 – 18 мм. Діаметр та висоту сформованої льодяної кулі в кінці 10-ї хв. заморозки вимірювали за допомогою штангельциркуля. Експеримент повторювали тричі.

Завданням *другого етапу* експериментального дослідження було вивчення морфологічних змін у пухлинних клітинах при контакті їх суспензії з дистильованою H_2O та отримання відповіді щодо необхідної мінімальної тривалості часу експозиції, достатньої для розвитку максимальної їх гідратації за рахунок осмосу. В якості експериментальної моделі обрано карциному Герена, пухлинний штам якої було отримано з «Клітинного банку ліній з тканин людини та тварин» Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України.

До 1 мл суспензії пухлинних клітин, розміщених в чашці Петрі, додавали 10 мл 0,9 % NaCl (контроль), в іншу чашку Петрі до 1 мл суспензії пухлинних клітин додавали 10 мл дистильованої H_2O та фіксували час початку контакту пухлинних клітин з дистильованою H_2O . Було сформовано групу порівняння (пухлинні клітини, що перебували в контакт з 0,9 % NaCl) та три дослідні групи (пухлинні клітини, що перебували в контакт з дистильованою H_2O 5 хв, 10 хв та 15 хв). В якості дистильованої H_2O застосовували стерильну «Воду для ін'єкцій», яка виготовляється шляхом обов'язкової дистиляції ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»» (м. Київ, Україна) та внесена в Державну Фармакопею України.

Для аналізу морфологічних змін та оцінки морфометричних даних в клітинах карциноми готували цитологічні препарати. З чашки Петрі, в яку до пухлинних клітин додавали 0,9 % NaCl, стерильною піпеткою забирали 0,1 мл суспензії та наносили її тонким шаром на предметне скло. На 5-ту, 10-ту та 15-ту хв від початку контакту пухлинних клітин з дистильованою H_2O з іншої чашки Петрі ідентичним способом стерильною піпеткою також забирали 0,1 мл суспензії та наносили на

предметне скло тонким шаром. Подальша підготовка цитологічних препаратів проводилась за стандартною методикою шляхом етапного виконання висушування, фіксації та забарвлення матеріалу на предметних скельцях. Після висушування на повітрі, препарати фіксували в Азур-Еозині протягом 3 хв з подальшим забарвленням за Романовським 10 хв. Цитоморфологічні дослідження проводились на мікроскопі Olympus CX – 21 (Японія), оптична система UIS 2, об'єктиви план-ахромат С 10х, 20х, 40х, 100х oil і Leica Microsystems DM E (Німеччина), об'єктив С-Plan 4х, 10х, 20х, 100х oil.

Мікрофотографії виконували за допомогою фотонасадки Sony DSC-H10 на збільшенні 40х та 100х за допомогою імерсійного масла RAL Diagnostics (Франція). За допомогою програми Altami Studio 3.4.0 вимірювали площу поперечного січення 100 пухлинних клітин (мкм^2) як у групі порівняння так і в дослідних групах.

Метою *третього етапу* експериментального дослідження було отримання відповіді на запитання, чи посилює процес локальної кріодії попереднє введення дистильованої H_2O в біологічну тканину за відсутності кровотоку. В якості експериментальної моделі було обрано паренхіматозний орган – печінку свині. Було сформовано дві групи дослідних зразків печінки: групу порівняння та основну. В кожну групу включено по 3 дослідних зразки. Локальну кріодію без додаткових маніпуляцій проводили в групі порівняння; в основній групі – попередньо вводили 20 мл дистильованої H_2O в паренхіму печінки, в ділянці запланованої локальної кріодії, де через 5 хв після введення проводили локальний кріовплив. Динаміку змін температури в печінці на дискретних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) від робочої поверхні кріоаплікатора визначали за показниками чотирьох встановлених мідь-константанових термопар Т-типу. Процес низькотемпературного локального кріовпливу здійснювали універсальною кріохірургічною установкою «Кріо-Пульс». Застосовували кріоаплікатор діаметром 20 мм та температурою робочої поверхні – 180°C , час експозиції кріовпливу складав 10 хв. Кріодеструкцію виконували подвійним циклом з наступним спонтанним відтаванням після завершення 10-ї хв кріовпливу кожного циклу заморозки як в поєднанні з кріопотенціюванням дистильованою H_2O , так і без. Експеримент повторювали тричі.

Метою *четвертого етапу* експериментального дослідження було отримання відповіді на запитання, чи посилює попереднє введення дистильованої H_2O в солідну зляжкісну пухлину процес локальної кріодії за збереженого кровотоку. Для досягнення поставленої мети було сформульовано вирішити наступні завдання: 1) вивчити динаміку змін температури на дискретних глибинах (3, 8, 13, 18 мм) у фіксованих точках в пухлинній тканині під час локальної кріодії подвійним циклом без застосування та із застосуванням попереднього введення в тканину дистильованої H_2O ; 2) розробити формулу розрахунку об'єму дистильованої H_2O , яку необхідно ввести в солідну пухлину з метою кріопотенціювання; 3) дослідити морфологічні зміни, які відбуваються в пухлинній тканині після двох циклів локальної кріодії без потенціювання дистильованою H_2O та з кріопотенціюванням.

В якості експериментальної моделі було обрано карциному Герена, перещеплену 40 білим безпородним щурам, взятих з акредитованого віварію Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Карциному Герена

перещеплювали за стандартною методикою шляхом підшкірного введення 0,5 мл 20 % суспензії пухлинних клітин в бік біля задньої лапки щура. На 10–12 добу після перещеплення, при досягненні розмірів пухлини не менше 2 см в діаметрі, вводили щура в наркоз шляхом внутрішньо-очеревинного введення 1 % розчину тіопенталу натрію в дозі 1,5 мг на 100 г маси тіла. Експеримент носив гострий характер.

До моменту формування дослідних груп з дослідження було загалом виключено 22,5 % (n=9) дослідних тварин. Причини виключення: негативне перещеплення (n=3); висота пухлини до 12-ї доби від моменту перещеплення менше 20 мм (n=4); ріст пухлини химерної форми та місце її локалізації, відмінне від запланованого, що унеможливило стандартизований підхід до проведення локального кріовпливу з термометрією (n=2). Отже, із 40 щурів, яким виконувалось перещеплення карциноми Герена, відсоток позитивних перещеплень склав 92,5 % (n=37). Із 37 дослідних тварин, у яких було констатовано позитивний ефект перещеплення, у 89,2 % випадків (n=31) висота пухлини до 12-ї доби після перещеплення мала розмір більше 20 мм.

Таким чином було сформовано 2 групи дослідних тварин: групу порівняння – 6 щурів з перещепленою карциномою Герена без будь-якого впливу на пухлину; основну групу – 25 щурів. Основну групу було розподілено на 3 підгрупи: підгрупа А – 7 щурів, у пухлину яких вводили лише дистильовану H_2O ; підгрупа Б – 8 щурів, де проводилась локальна кріодія на пухлину подвійним циклом; підгрупа С – 10 щурів: в пухлину карциноми Герена вводили дистильовану H_2O та через 5 хв проводили 2 цикли локальної кріодії. Застосовували кріоаплікатор діаметром 20 мм та температурою робочої поверхні $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$, час експозиції кріодії складав 5 хв. Кріодеструкцію виконували подвійним циклом з наступним спонтанним відтаванням після завершення 5-ї хв кріодії кожного циклу заморозки як у поєднанні з кріопотенціюванням дистильованою H_2O , так і без.

Важливим критерієм включення в дослідження щурів була висота пухлини, яка мала складати до 12-ї доби після перевивання не менше 20 мм, що дозволяло проводити термометрію, оскільки найдовша четверта термopара дає змогу отримувати температурні дані в найбільш віддаленій точці від поверхні кріоаплікатора – на глибині 18 мм.

Характеристика клінічної частини дослідження. В основу клінічної частини дослідження було покладено аналіз результатів діагностики, лікування та спостереження за 97 хворими з незапальними захворюваннями підшлункової залози, які були проліковані в період з 2010 до 2017 р. в Київському міському центрі хірургії захворювань печінки, жовчних протоків та підшлункової залози імені В. С. Земскова при Київській міській клінічній лікарні №10, що є клінічною базою кафедри загальної хірургії №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Всі дослідження були погоджені з етичною комісією Національного медичного університету імені О. О. Богомольця та Київської міської клінічної лікарні №10 (протокол № 93 від 11 березня 2016 р.). Усі хворі, залучені в дослідження, добровільно надавали згоду на участь в ньому шляхом підписання поінформованої згоди. Залучення пацієнтів у дослідження проводили згідно з чітко розробленими критеріями включення, невключення та виключення.

Критерії включення хворого в дослідження: вік хворого 18–85 років; вперше в

житті діагностована резектабельна зляквісна солідна пухлина підшлункової залози; відсутність інвазії пухлини в магістральні судини, навіть при можливості виконання їх реконструкції чи протезування; гістологічний тип пухлини – протокова аденокарцинома підшлункової залози; локалізація пухлини – головка, тіло, хвіст підшлункової залози; відсутність критеріїв невключення та виключення; добровільна інформована згода хворого на участь у дослідженні.

Критерії невключення: невідповідність хворого хоча б одному з критеріїв включення; локалізація пухлини в крючкоподібному відростку, ділянці перешийка підшлункової залози; мультифокальне ураження пухлинним процесом підшлункової залози; поширення пухлини головки чи тіла підшлункової залози на ділянку її перешийка; первинно-множинний синхронний та метасинхронний рак двох різних локалізацій на момент встановлення діагнозу раку підшлункової залози; наявність інших зляквісних новоутворень в анамнезі; проведена неоад'ювантна хіміотерапія чи інші локальні методи абляції пухлини до радикальної резекції підшлункової залози; наявність протипоказів до виконання радикальної резекції підшлункової залози; декомпенсована недостатність хоча б однієї з систем організму (серцево-судинна, дихальна, печінкова, ниркова недостатність тощо) або будь-яка їх комбінація.

Критерії виключення: інтраопераційно було виявлено ознаки нерезектабельності пухлини, що не були діагностовані до операції; тотальне ураження пухлиною підшлункової залози, що не було діагностовано до операції сучасними методами візуалізації; виявлені макроскопічно інтраопераційно віддалені метастази або канцероматоз очеревини, що не були діагностовані до операції; виявлено інтраопераційно ознаки інвазії пухлини підшлункової залози в магістральну (і) судини, що за умови технічної можливості виконання резекції залози вимагало їх реконструкції або кріоабляції; за результатами патогістологічного дослідження отримано гістологічний тип пухлини, відмінний від протокової аденокарциноми; відмова хворого на будь-якому етапі дослідження продовжувати брати в ньому участь; недотримання хворим комплаєнсу діагностичного алгоритму, лікування та післяопераційного нагляду.

Клінічну частину дослідження було розподілено на **3 етапи**: на **1-му етапі** (2010–2015 рр.) хворим з резектабельною солідною пухлиною підшлункової залози виконували класичний варіант резекції залози, тип якої залежав від локалізації пухлини; на **2-му етапі** (2015–2016 рр.) – проводили кріофіксацію пухлини з наступним виконанням резекції підшлункової залози, тип якої визначався локалізацією пухлини; на **3-му етапі** (2016–2017 рр.) проводили посилення процесу кріофіксації, шляхом попереднього введення в пухлину дистильованої H_2O з наступним виконанням кріофіксації та резекції підшлункової залози.

Усіх хворих, включених в дослідження в період з 2010 по 2017 рр., було розподілено на 3 групи – дві групи порівняння та одну основну.

Для зручності сприйняття представлених даних, сформовані групи хворих були позначені наступним чином: «Р» – група порівняння хворих першого періоду дослідження (2010–2015 рр.), яким виконувався той чи інший тип резекції підшлункової залози за стандартною, загальноприйнятою на той момент часу методикою (n=46); «К+Р» – група порівняння хворих другого періоду дослідження (2015–2016 рр.), яким виконували кріофіксацію пухлини за загальноприйнятою на

той момент часу методикою з наступним виконанням резекції підшлункової залози, тип якої визначався локалізацією пухлини (n=21); «Д+К+Р» – основна група хворих третього періоду дослідження (2016–2017 рр.), яким спочатку проводили посилення процесу кріофіксації, шляхом попереднього введення в пухлину дистильованої Н₂О з послідовним виконанням кріофіксації та резекції підшлункової залози (n=30).

Групу порівняння (Р), групу порівняння (К+Р) та основну групу (Д+К+Р) в свою чергу було розподілено на дві підгрупи: підгрупа І та підгрупа ІІ. Розподіл хворих кожної із сформованих груп на підгрупи був обумовлений локалізацією пухлини: у підгрупу І увійшли хворі з локалізацією пухлини в проксимальному відділі підшлункової залози (головка); у підгрупу ІІ – з локалізацією в дистальному відділі залози (тіло, хвіст, межа тіла-хвоста підшлункової залози).

Середній вік всіх хворих, включених у дослідження (n=97), складав (60,4 ± 1,1) роки (95 % ВІ: 58,3–62,6). Згідно з критеріями включення та не включення в дослідження в період 2010–2017 рр. було залучено 72,2 % (70 з 97) пацієнтів з проксимальною локалізацією пухлини (головка підшлункової залози) та 27,8 % (27 з 97) з локалізацією пухлини в її дистальних відділах (тіло, хвіст, на межі тіла-хвоста). При аналізі даних розподілу хворих за стадією згідно TNM-7 при локалізації солідної пухлини в голові підшлункової залози суттєвої відмінності не виявлено – стадію ІВ було встановлено в 22,68 % хворих, стадію ІА – в 25,77 % та стадію ІВ – в 23,71 %. Однак, у дистальному відділі підшлункової залози виявлено переважання частоти встановлення ІВ стадії порівняно з ІВ та ІА, у співвідношенні 12,37 %, 6,19 % та 9,28 % відповідно. Переважали пацієнти з проксимальною локалізацією пухлини підшлункової залози (головка) 72,2 % (70 з 97); хворі з локалізацією пухлини в дистальних відділах підшлункової залози (тіло, хвіст, на межі тіла-хвоста) склали 27,8 % (27 з 97). Частота встановлення ІА та ІВ стадії у хворих з резектабельним раком підшлункової залози суттєво не відрізнялась і становила 35 % (34 хворих з 97) та 36,1 % (35 хворих з 97) відповідно. У жодного хворого, включеного в дослідження, не встановлено ІА стадію.

Достовірної різниці частоти розподілу хворих на рак підшлункової залози між групами порівняння (Р), (К+Р) та основною групою (Д+К+Р) за віком, статтю, локалізацією пухлини, стадією захворювання за класифікацією TNM-7 не виявлено, p>0,05. Дослідні групи були репрезентативними, що дозволяло нам проводити в подальшому між ними порівняльний аналіз результатів лікування хворих.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

ПОТЕНЦІОВАННЯ ВПЛИВУ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ПУХЛИННУ ТКАНИНУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Результати дослідження процесу локальної кріодії на експериментальних моделях розчинів 0,9 % NaCl, 36 % NaCl та дистильованої Н₂О. За результатами *першого етапу* дослідження встановлено: при локальній кріодії кріоаплікатором Ø 20 мм з часом експозиції періоду заморожування 10 хв, найбільший об'єм льоду утворюється в дистильованій Н₂О і складає в середньому (21,8 ± 0,9) см³, що на 71,6 % перевищує об'єм сегмента льодяної кулі в розчині 0,9 % NaCl та на 384,4 % – в розчині 36 % NaCl, для яких об'єми льоду склали (12,7 ± 0,3) см³ та (4,2 ± 0,3) см³

відповідно; в дистильованій H_2O в кінці 10-ї хв локальної кріодії аплікатором \varnothing 20 мм досягаються середні температури в діапазоні мінусових значень по усіх чотирьох термопарах, що достовірно перевищують відповідні значення середніх температур як у розчині 0,9 % NaCl, так і 36 % NaCl на рівні значущості $p < 0,001$; на підставі отриманих результатів першого етапу експериментального дослідження було висунуто гіпотезу, що дистильована H_2O може бути використана в якості ефективного засобу потенціювання локальної кріодії в біологічній тканині, внаслідок притаманних їй специфічних теплофізичних властивостей, а саме – холодопроведення та кристалоутворення.

Залежність морфологічних змін у клітинах карциноми Герена від часу експозиції в дистильованій H_2O . За результатами *другого етапу* експериментального дослідження було встановлено: час експозиції тривалістю 5 хв є достатнім при контакті пухлинних клітин карциноми Герена з дистильованою H_2O для розвитку максимальної їх гідратації за рахунок осмосу; середня площа поперечного січення пухлинних клітин контрольної групи препаратів складала $(17,3 \pm 0,1)$ мкм², що достовірно менше, ніж в дослідній групі препаратів $(59,7 \pm 0,5)$ мкм² з часом експозиції в дистильованій H_2O – 5 хв на рівні значущості $p < 0,05$; середній розмір клітин карциноми Герена, що перебували в контакті з дистильованою H_2O , починаючи з 5-ї хвилини експозиції збільшується не менш ніж у 3,4 рази порівняно з контрольною групою; в 100 % клітин карциноми Герена, починаючи з 5-ї хв їх контакту з дистильованою H_2O , відмічаються необоротні морфологічні зміни з різним ступенем деструкції, що ведуть до неминучої клітинної загибелі. Зі збільшенням часу експозиції контакту пухлинних клітин з дистильованою H_2O до 10 та 15 хв дані деструктивні зміни продовжують тільки прогресувати.

Результати дослідження процесу локальної кріодії, потенційованого дистильованою H_2O , на моделі печінки свині за відсутності спланхнічного кровотоку. За результатами *третього етапу* експериментального дослідження було встановлено, що в основній групі препаратів, де за 5 хв до початку локального кріовпливу в паренхіму печінки свині вводили дистильовану H_2O , в кінці 10-ї хв як першого, так і другого циклів кріовпливу на всіх глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) від робочої поверхні кріоаплікатора отримано достовірно нижчі середні значення температур, ніж в препаратах групи порівняння (дистильовану H_2O не вводили) на рівні значущості у всіх випадках $p < 0,001$.

В основній групі на глибині 3 мм від робочої поверхні кріоаплікатора наприкінці 10-ї хв другого циклу кріовпливу середня температура на 97,2 % була нижчою ніж в групі порівняння ($t_{гп} = -49,2 (0,2) < t_{ог} = -85,2 (0,2)$); на глибині 8 мм – на 142,1 % нижча групи порівняння ($t_{гп} = -8,5 (0,2) < t_{ог} = -61,1 (0,6)$); на глибині 13 мм – на 152,7 % нижча групи порівняння ($t_{гп} = -3 (0,1) < t_{ог} = -59,5 (0,2)$) та на 109 % нижча групи порівняння на глибині 18 мм ($t_{гп} = -0,1 (0,08) < t_{ог} = -40,5 (0,8)$).

Результати дослідження процесу локальної кріодії, потенційованого дистильованою H_2O , на моделі безпородних щурів з перещепленою карциномою Герена за збереженого кровотоку. За результатами *четвертого етапу* експериментальної частини дослідження: середній об'єм пухлини ($V_{п.}$, см³) дослідних тварин ($n=17$) підгрупи А та С становив $10,54$ см³ (95 % ВІ: 9,86 – 11,21). Середній об'єм дистильованої H_2O ($V_{д.в.}$, мл³), введеної в пухлину склав $4,0$ мл³ (95 % ВІ:

3,7 – 4,2). При порівнянні середніх значень $V_{п.}$ та $V_{д.в.}$ виявлено достовірну різницю на рівні значущості $p < 0,001$. У відсотковому співвідношенні в експерименті на моделі карциноми Герена білих безпородних шурів максимальний середній $V_{д.в.}$, що був введений в солідну пухлину, склав 38 % від $V_{п.}$. Таким чином, нами було виведено коефіцієнт (К), який становить 3,8. Останній ми застосували у формулі розрахунку об'єму дистильованої H_2O , необхідної для введення в солідну пухлину з метою потенціювання процесу локальної кріодії (кріофіксації, кріодеструкції).

Отже, з метою введення в солідну пухлину дистильованої H_2O , необхідний її об'єм можна розраховувати за наступною розробленою формулою (1):

$$V_{д.в.} = V_{п.} \times 0,38, \quad (1)$$

де $V_{д.в.}$ – об'єм дистильованої H_2O (мл³);

$V_{п.}$ – об'єм пухлини (см³);

0,38 – коефіцієнт (К), що визначений експериментально.

За показниками термопари Т3 (13 мм) та Т4 (18 мм) було відмічено, що середня температура з 1-ї та до 5-ї хв включно впродовж періоду заморозки першого циклу локальної кріодії не досягає мінусових значень на відміну від відповідних термограм, де застосовувалось кріопотенціювання дистильованою H_2O . При порівнянні значень середньої температури в пухлині карциноми Герена на дискретних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) за показниками термопар Т1–Т4 під час локальної кріодії, починаючи з 1-ї та до 5-ї хв включно, досягались достовірно нижчі показники температур в підгрупі С (n=10) як під час першого, так і другого періоду заморожування порівняно з підгрупою В (n=8) на рівні значущості $p < 0,001$.

Таким чином, вперше в експерименті, на моделях *in vitro* та *in vivo*, було обґрунтовано ефективність застосування попереднього введення в біологічну тканину дистильованої H_2O з метою потенціювання локальної кріодії.

ДІАГНОСТИКА ТА ХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З РЕЗЕКТАБЕЛЬНОЮ СОЛІДНОЮ ЗЛОЯКІСНОЮ ПУХЛИНОЮ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В ГРУПІ ПОРІВНЯННЯ (Р)

На *першому етапі* клінічної частини дослідження в групі порівняння (Р) було встановлено, що середній $V_{п.}$ за даними магнітно-резонансної панкреато-холангіографії складав $(22,4 \pm 2,9)$ см³ (95 % ВІ: 16,2–28,5 см³); $V_{п.}$ за даними мультиспіральної комп'ютерної томографії – $(21,2 \pm 2,8)$ см³ (95 % ВІ: 15,1–27,3); фактичний об'єм видаленої пухлини – $(21,8 \pm 2,3)$ см³ (95 % ВІ: 16,9–26,7). Таким чином $V_{п.}$ за даними магнітно-резонансної панкреато-холангіографії, мультиспіральної комп'ютерної томографії достовірно не відрізняється від фактичного об'єму видаленої пухлини на рівні значущості, $p=0,951$.

Додатково в групі порівняння (Р) визначали циркулюючі пухлинні клітини в крові, ізольовані пухлинні клітини в перитонеальних змивах та циркулюючу пухлинну дезоксирибонуклеїнову кислоту з KRAS-мутацією з метою визначення можливості їх застосування як додаткового маркера безпосереднього контролю ефективності проведеної кріофіксації.

Було проаналізовано 72 цитоблоки, виготовлених із забраних зразків крові, забраних до, під час та після операції від 24 пацієнтів групи (Р). В жодному з

цитоблоків циркулюючі пухлинні клітини не були виявлені ані звичайним цитологічним методом, ані при імуноцитохімічному забарвленні. У жодного з 22 хворих у зразках перитонеальних змивів, забраних відразу після лапаротомії, не було виявлено ізольовані пухлинні клітини ні при застосуванні звичайного цитологічного методу, ні імуноцитохімічного. У 2 хворих імуноцитохімічним методом виявлено ізольовані пухлинні клітини на заключному етапі операції, що склало 9 % від загальної кількості хворих (n=22), у яких визначались ізольовані пухлинні клітини. В групі порівняння (P) з 10 хворих, які були включені в дослідження в 2013 р., у 7 (70 %) в матеріалі парафінових блоків формалін-фіксованої пухлинної тканини була виявлена KRAS-мутація. У 57,1 % випадків зустрічався с.35G > А тип KRAS-мутації, с.34G > С (14,3 %), с.35G > Т (14,3 %), с.183А > С (14,3 %). У жодному зразку плазми крові, забраної як до, під час, так і після операції методом цифрової крапельної полімеразної ланцюгової реакції, циркулююча пухлинна дезоксирибонуклеїнова кислота не була виявлена (дослідження проводилось в Інституті Кюрі (Париж, Франція).

КРІОФІКСАЦІЯ РЕЗЕКТАБЕЛЬНИХ СОЛІДНИХ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В ГРУПІ ПОРІВНЯННЯ (К+Р)

У 2015 р. було проведено **2-й етап** клінічного дослідження. Метод попередньої кріофіксації резектабельної солідної злоякісної пухлини підшлункової залози був застосований у 21 хворого, які увійшли в групу порівняння (К+Р) (рис. 1).

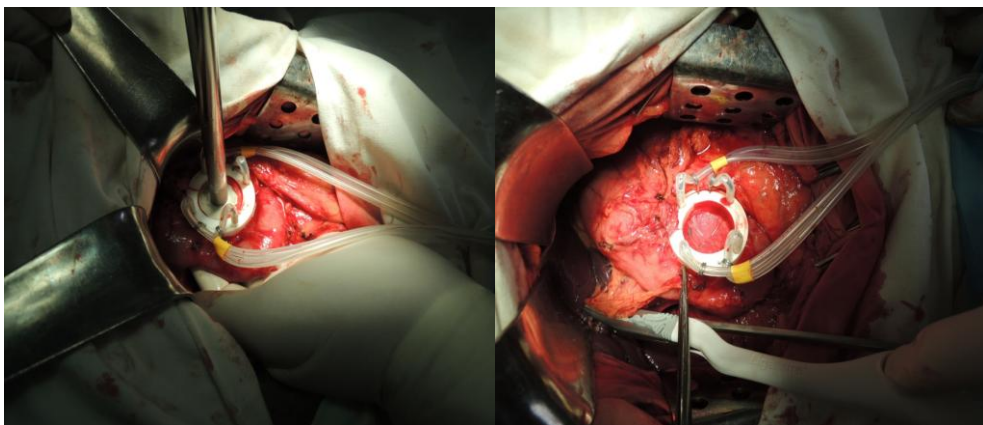


Рис. 1. Кріофіксація резектабельної пухлини головки підшлункової залози.

Метою 2-го етапу дослідження було: визначити температурний градієнт кріофіксації пухлини у фіксованих точках на різній глибині від поверхні кріоаплікатора; визначити морфологічні зміни фіксованих точок у пухлині, що піддавалась кріофіксації, та встановити кореляційний зв'язок між цими змінами та температурним градієнтом.

Пацієнтам групи порівняння (К+Р) спочатку проводили кріофіксацію резектабельної солідної пухлини підшлункової залози подвійним циклом кріоаплікатором діаметром 30 мм з тривалістю експозиції періоду заморозки 10 хв зі спонтанним відтаванням з наступним виконанням резекції підшлункової залози за стандартною методикою.

Хворі групи (К+Р) склали 19,8 % від загальної кількості (n=97), включених у дослідження в період 2010–2017 рр.

Середній вік хворих групи (К+Р) складав $(61,6 \pm 2,1)$ роки (95 % ВІ: 57,1–66,1 років). Жінок було 8, чоловіків – 13, що склало 38,1 та 61,9 % відповідно. Частота локалізації пухлин у проксимальному відділі підшлункової залози переважала. Так, у головці підшлункової залози солідна резектабельна пухлина локалізувалась у 14 (66,7 %) хворих, у хвості – 1 (4,8 %), у тілі – в 4 (19 %), на межі тіла-хвоста підшлункової залози в 2 (9,5 %).

Встановлено лінійний кореляційний зв'язок ($R = -0,980$; $p = 0,020$) між рівнем досягнутої середньої температури в пухлинній тканині підшлункової залози і відсотком пухлинних клітин, що загинули внаслідок первинного кріоушкодження: відсоток пухлинних клітин з необоротними деструктивними змінами зменшується із збільшенням відстані від робочої поверхні кріоаплікатора.

За результатами другого етапу клінічної частини дослідження було сформульовано наступні висновки: у хворих з локалізацією резектабельної солідної пухлини в тілі і хвості підшлункової залози при кріофіксації досягаються статистично значущо більш низькі середні температури на глибині 3, 8, 13 і 18 мм порівняно з хворими, у яких пухлина локалізується в головці підшлункової залози, що обумовлено масивним теплоприведенням від магістральних судин у проекції головки залози; тромбоз судин мікроциркуляторного русла в пухлинній тканині має місце в тих її ділянках, де було досягнуто температури нижче $0\text{ }^{\circ}\text{C}$; в пограничних із сегментом льодяної кулі ділянках пухлинної тканини, де температура вище $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, переважає внутрішньосудинний сладж; кріофіксація резектабельної солідної пухлини підшлункової залози подвійним циклом кріоаплікатором діаметром 30 мм з тривалістю експозиції періоду заморозки 10 хв зі спонтанним відтаванням не гарантує 100 % необоротної деструкції пухлинних клітин за рахунок первинного кріоушкодження на глибині 3, 8, 13 та 18 мм від робочої поверхні кріоаплікатора.

ПОТЕНЦІЮВАННЯ МЕТОДУ КРІОФІКСАЦІЇ ДИСТИЛЬОВАНОЮ H_2O ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ З РЕЗЕКТАБЕЛЬНОЮ СОЛІДНОЮ ЗЛОЯКІСНОЮ ПУХЛИНОЮ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В ОСНОВНІЙ ГРУПІ

У 2016–2017 рр. було проведено *3-й етап* клінічної частини дослідження. Хворим основної групи (Д+К+Р) ($n = 30$) в солідну резектабельну пухлину за 5 хв до початку проведення кріофіксації вводили дистильовану H_2O з метою кріопотенціювання з наступним виконанням класичного варіанта резекції підшлункової залози залежно від локалізації пухлини в проксимальному чи дистальному її відділах.

Розроблено спосіб кріопотенціювання шляхом попереднього введення в резектабельну злоякісну солідну пухлину підшлункової залози дистильованої H_2O (патент України на корисну модель № 119932 від 2017 р.), що дозволяє досягати під час кріофіксації температур в діапазоні мінусових значень на всіх дослідних глибинах (3, 8, 13, 18 мм), які у відсотковому співвідношенні на $(111,4 \pm 20,1)$ % нижчі в підгрупі (Д+К+Р)_I порівняно з підгрупою (К+Р)_I. При цьому значення $t_{\text{сер.}}$ в підгрупі (Д+К+Р)_I основної групи достовірно нижчі порівняно з підгрупою (К+Р)_I групи порівняння на рівні значущості $p < 0,05$ по всіх дослідних глибинах (3, 8, 13, 18 мм). Введення дистильованої H_2O в резектабельну злоякісну солідну пухлину головки підшлункової залози за 5 хв до початку локальної кріодії (підгрупа Д+К+Р_I) дозволяє в кінці 10-ї хв

другого циклу кріофіксації досягати температури в діапазоні мінусових значень, що в середньому в $(2,1 \pm 0,2)$ рази перевищує значення температур, де кріопотенціювання не застосовували (підгрупа K+P_I).

Порівняльний аналіз значень досягнутої середньої температури в пухлині підшлункової залози за показниками термодатчиків T1–T4 в кінці 10-ї хвилини другого циклу кріофіксації було проведено між підгрупою (K+P)_{II} групи порівняння та підгрупою (D+K+P)_{II} основної групи хворих. Було встановлено, що попереднє введення дистильованої H₂O в резектабельну злоякісну солідну пухлину дистального відділу підшлункової залози дозволяє досягати під час кріофіксації температур у діапазоні мінусових значень також на всіх дослідних глибинах (3, 8, 13, 18 мм), що у відсотковому співвідношенні на $(91,1 \pm 22,3)$ % нижчі в підгрупі (D+K+P)_{II} порівняно з підгрупою (K+P)_{II}. При цьому значення $t_{\text{сер.}}$ в підгрупі (D+K+P)_{II} основної групи достовірно нижчі порівняно з підгрупою (K+P)_I групи порівняння на рівні значущості $p < 0,05$ по всіх дослідних глибинах (3, 8, 13, 18 мм).

Введення дистильованої H₂O в резектабельну злоякісну солідну пухлину дистального відділу підшлункової залози за 5 хв до початку локальної кріодії (підгрупа (D+K+P)_{II}) дозволяє в кінці 10-ї хв другого циклу кріофіксації досягати температур в діапазоні мінусових значень, що в середньому в $(1,85 \pm 0,24)$ рази перевищує значення температур, де кріопотенціювання не застосовувалось (підгрупа K+P_{II}).

Таким чином за результатами третього етапу клінічної частини дослідження було сформульовано наступні висновки:

- введення в резектабельну солідну злоякісну пухлину підшлункової залози дистильованої H₂O за 5 хв до початку процесу кріофіксації чинить потенціюючий ефект, що проявляється досягненням більш низьких температур за показниками термодатчиків T1–T4, у т. ч. в найбільш віддалених від робочої поверхні кріоаплікатора ділянках;

- при локалізації пухлини в проксимальному відділі підшлункової залози потенціювання процесу кріофіксації дистильованою H₂O дозволяє отримувати середні температури в діапазоні мінусових значень в кінці 10-ї хв другого циклу заморозки, що в $(2,1 \pm 0,2)$ рази перевищують значення температур, де кріопотенціювання не застосовували;

- при локалізації пухлини в дистальному відділі підшлункової залози потенціювання процесу кріофіксації дистильованою H₂O дозволяє отримувати середні температури в діапазоні мінусових значень в кінці 10-ї хв другого циклу заморозки, що в $(1,85 \pm 0,24)$ рази перевищують значення температур, де кріопотенціювання не застосовували;

- кріофіксація резектабельної солідної злоякісної пухлини підшлункової залози, потенційована попереднім введенням в неї дистильованої H₂O, із застосуванням кріоаплікатора Ø 30 мм та проведенням подвійного циклу заморозки з часом експозиції одного циклу 10 хв та наступним спонтанним відтаванням після кожного циклу, дозволяє гарантовано отримувати необоротні деструктивні зміни у 100 % пухлинних клітин унаслідок ефекту первинного кріоушкодження, а також мікротромбозів у судинах мікроциркуляторного русла пухлини у всіх ділянках її об'єму.

**ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА КЛІНІЧНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ХІРУРГІЧНОГО
ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З НЕЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПІДШЛУНКОВОЇ
ЗАЛОЗИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДУ КРІОФІКСАЦІЇ**

Порівняльний аналіз безпосередніх результатів хірургічного лікування хворих з резектабельною протоковою аденокарциномою підшлункової залози із застосуванням методу кріофіксації. Безпосередні ранні післяопераційні результати лікування оцінювали за наступними показниками: тривалість оперативного втручання (хв); об'єм інтраопераційної крововтрати (мл); чи проводилась гемотрансфузія під час операції та її об'єм; тривалість перебування хворого в реанімації після операції (доба); доба, на яку з'явилась активна перистальтика; частота та характер післяопераційних ускладнень; частота та причини релапаротомії (повторне оперативне втручання протягом 30 діб після первинної операції); кількість післяопераційних ліжко-діб; післяопераційна летальність (табл. 1). Достовірної різниці між групами за вище наведеними показниками виявлено не було, окрім дня появи активної перистальтики, що з'являлась на першу добу пізніше в групі порівняння (К+Р) та основній групі (Д+К+Р) порівняно з групою порівняння (Р) і складала (4±0,3), (4±0,25) та (3±0,2) відповідно на рівні значущості $p < 0,001$.

Таблиця 1

**Порівняльний аналіз безпосередніх результатів лікування пацієнтів з
незапальними захворюваннями підшлункової залози в групах порівняння (Р),
(К+Р) та основній групі (Д+К+Р)**

Показник	Всього хворих n=97	Група			p
		(Р) n=46	(К+Р) n=21	(Д+К+Р) n=30	
Тривалість операції, хв	364±9,1	372,8±16,2	370,4±13,5	346±12,9	0,422
Об'єм крововтрати, мл	478,4±44,7	578,3±81,3	331±41,8	428,3±60,7	0,077
Інтраопераційна гемотрансфузія, n (%)	22 (22,7)	12 (26)	2 (9,5)	8 (26,6)	0,266
Об'єм інтраопераційної гемотрансфузії, мл	334,8±31	339,4±43,9	267,5±12,5	344,8±56,9	0,805
Тривалість перебування в реанімації, діб, медіана	4±0,3;	4±0,6;	4±0,3;	4±0,5;	0,449
Поява активної перистальтики, доба, медіана; (95 % ВІ)	3±0,15; 2–4	3±0,2; 2–4	4±0,3;* 3–5	4±0,25;** 3–5	<0,001
Релапаротомія, n (%)	12 (12,4)	7 (15,2)	1 (4,7)	4 (13,3)	0,474
Післяопераційний (п/о) ліжко-доба, медіана; (95 % ВІ)	20±1,4 18–22	21±2,5 17–23	21±1,0 17–23	19±2,3 17–22	0,883
Післяопераційні ускладнення, n (%)	40 (41,2)	21 (45,7)	8 (38,1)	11 (36,7)	0,700
Післяопераційна летальність, n (%)	7 (7,2)	4 (8,7)	1 (4,8)	2 (6,7)	0,84

Примітки: * – достовірна різниця показника в групі (К+Р) порівняно з (Р); ** – достовірна різниця показника в групі (Д+К+Р) порівняно з (Р).

Порівняльний аналіз віддалених результатів хірургічного лікування хворих з резектабельною протоковою аденокарциномою підшлункової залози між групами (Р), (К+Р) та (Д+К+Р). Враховуючи особливості дизайну дослідження, а саме його етапність, що передбачала послідовний набір хворих в групу порівняння (Р) в період з 2010 по 2015 рр., групу порівняння (К+Р) в період з 2015 по 2016 р. та основну групу (Д+К+Р) в період з 2016 по 2017 р. включно – аналіз віддалених результатів лікування між трьома групами проводився в терміни спостереження 12, 18 та 24 місяці.

Враховуючи те, що загалом по всій вибірці хворих на незапальні захворювання підшлункової залози (n=97), що були включені в дослідження в період з 2010 по 2017 рр. показник післяопераційної летальності склав 7,2 %, то віддалені результати лікування були відстежені в 90 з 97 хворих.

Ймовірність кумулятивної виживаності (Kaplan-Meier) між групами порівняння хворих (Р), (К+Р) та основною групою (Д+К+Р) в термін спостереження 12 місяців склала 63,1 %, 65 % та 89,3 % відповідно. Не дивлячись на те, що в основній групі (Д+К+Р), ймовірність виживаності хворих в термін спостереження 12 місяців на 26,2 % перевищувала відповідний показник в групі порівняння (Р) та на 24,3 % в групі порівняння (К+Р) достовірної різниці між трьома групами не було виявлено ($\chi^2=5,75$; $p=0,056$).

В термін спостереження 18 місяців кумулятивна виживаність в групі порівняння (Р) склала 42,2 %, в групі порівняння (К+Р) – 49,5 %, основній групі (Д+К+Р) – 74,7 %. В основній групі (Д+К+Р) ймовірність виживаності хворих в термін спостереження 18 місяців достовірно на 32,5 % перевищував відповідний показник в групі порівняння (Р) та на 25,2 % – в групі порівняння (К+Р) на рівні значущості ($\chi^2=7,35$; $p=0,025$) (рис. 2).

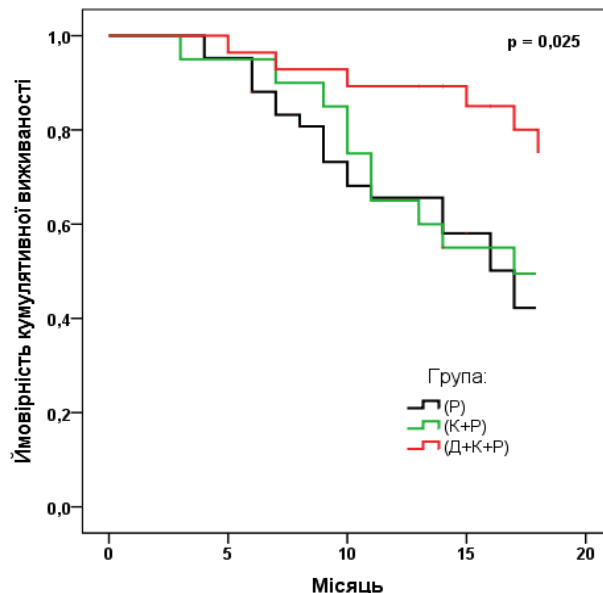


Рис. 2. Ймовірність кумулятивної виживаності (Kaplan-Meier) в термін спостереження 18 міс. в групах порівняння (Р), (К+Р) та основній групі (Д+К+Р).

При проведенні порівняння по показнику кумулятивної виживаності в термін спостереження 1,5 роки між групами порівняння (Р) та (К+Р) достовірної різниці виявлено не було ($\chi^2=0,20$; $p=0,65$). При цьому кумулятивна виживаність в групі

(К+Р) лише на 7,3 % перевищувала відповідний показник в групі (Р).

В групі порівняння (Р) кумулятивна виживаність в термін спостереження 24 місяці склала 28,1 %, групі порівняння (К+Р) – 33,0 %, основній групі (Д+К+Р) – 48,0 % ($\chi^2=5,25$; $p=0,072$).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено результати експериментально-клінічного дослідження, в процесі проведення якого було вирішено ряд нових наукових завдань, що дозволило досягти поставленої мети – достовірно покращити віддалені результати хірургічного лікування хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози шляхом удосконалення методу кріофіксації.

1. Завдяки розробленому способу контролю показників температури на дискретних глибинах шляхом застосування мідь-константанових термопар Т-типу довжиною 3, 8, 13 та 18 мм встановлено, що у хворих з локалізацією резектабельної солідної пухлини в тілі і хвості підшлункової залози при кріофіксації подвійним циклом кріоаплікатором діаметром 30 мм з тривалістю експозиції періоду заморозки 10 хв зі спонтанним відтаванням досягаються достовірно нижчі показники середньої температури на глибині 3, 8, 13 і 18 мм порівняно з хворими, у яких пухлина локалізується в головці підшлункової залози, що обумовлено масивним теплоприведенням від магістральних судин у проекції головки залози.

2. Кріофіксація резектабельної солідної пухлини підшлункової залози подвійним циклом кріоаплікатором діаметром 30 мм з тривалістю експозиції періоду заморозки 10 хв зі спонтанним відтаванням не гарантує 100 % необоротної деструкції пухлинних клітин за рахунок первинного кріоушкодження на дослідних глибинах від робочої поверхні кріоаплікатора. Відсоток пухлинних клітин з необоротними деструктивними змінами зменшується із збільшенням відстані від робочої поверхні кріоаплікатора і корелює ($R=-0,980$; $p=0,020$) з досягнутою критичною температурою на конкретній глибині. Тромбоз судин мікроциркуляторного русла в пухлинній тканині має місце в тих її ділянках, де досягається температура нижче 0 °С.

3. Цитологічний, імуноцитохімічний метод в ідентифікації циркулюючих пухлинних клітин в крові та ізольованих пухлинних клітин у перитонеальних змивах, метод полімеразної ланцюгової реакції в ідентифікації циркулюючої пухлинної дезоксирибонуклеїнової кислоти з KRAS-мутацією у плазмі крові хворих на резектабельний рак підшлункової залози – не є діагностично значимими та інформативними для рекомендації їх рутинного застосування в клінічній практиці, як додаткового засобу безпосереднього контролю ефективності проведення кріофіксації.

4. Методика потенціювання процесу кріофіксації дистильованою H_2O резектабельної солідної злоякісної пухлини підшлункової залози дозволяє отримати середні температури в діапазоні мінусових значень в кінці 10-ї хв другого циклу заморозки, які в $(2,1\pm 0,2)$ рази перевищують значення температур, де кріопотенціювання не застосовували – при локалізації пухлини в проксимальному відділі підшлункової залози, та в $(1,85\pm 0,24)$ рази – при локалізації пухлини в дистальному відділі підшлункової залози.

5. Потенціювання процесу кріофіксації резектабельної солідної пухлини підшлункової залози шляхом попереднього введення в останню дистильованої H_2O ,

об'єм якої складає 38 % об'єму пухлини та послідує виконанням двох циклів локальної кріодії аплікатором Ø 30 мм з набору універсальної кріохірургічної установки «Кріо-Пульс» дозволяє досягати гарантовано середніх температур на всіх дослідних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) в діапазоні мінусових значень, що викликають 100 % необоротну деструкцію пухлинних клітин в заданому об'ємі за рахунок ефекту первинного кріоушкодження та тромбоз судин мікроциркуляторного русла пухлини.

6. Метод потенціювання дистильованою H_2O процесу кріофіксації резектабельної солідної злоякісної пухлини підшлункової залози подвійним циклом заморожування з послідує виконанням радикальної резекції залози дозволив достовірно збільшити кумулятивну виживаність хворих в основній групі (Д+К+Р) в термін спостереження 18 міс. до 74,7 %, що перевищував відповідний показник в групі порівняння (Р) на 32,5 %, та на 25,2 % – в групі порівняння (К+Р) на рівні значущості ($\chi^2=7,35$; $p=0,025$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою профілактики інтраопераційної дисемінації пухлинних клітин внаслідок пальпаторно-тракційних маніпуляцій з пухлиною на етапі мобілізації комплексу, у хворих з резектабельною протоковою аденокарциномою підшлункової залози першим етапом операції показано виконання кріофіксації пухлини.

2. Показанням до застосування методу кріофіксації є резектабельна злоякісна солідна пухлина підшлункової залози з локалізацією в головці, тілі, хвості або на межі тіла-хвоста залози ІВ, ІІА та ІІВ стадії за TNM 7-го перегляду.

3. Об'єм пухлини ($V_{п.}$) підшлункової залози розраховується за формулою [$V_{п.} = (a \times b \times c) \times 0,52$], де a – ширина, b – висота, c – довжина; при визначенні лінійних розмірів пухлини (ширина, висота, довжина) метод мультиспіральної комп'ютерної томографії не має переваг над методом магнітно-резонансної холангіопанкреатографії, тому будь-який з них може застосовуватись однаково ефективно.

4. Дані $V_{п.}$, отримані на доопераційному етапі, необхідні для розрахунку об'єму дистильованої H_2O ($V_{д.в.}$), що необхідно вводити в пухлину з метою кріопотенціювання за формулою [$V_{д.в.} = V_{п.} \times 0,38$], де $V_{д.в.}$ – об'єм дистильованої H_2O (мл³); $V_{п.}$ – об'єм пухлини (см³); 0,38 – коефіцієнт (К), що визначений експериментально.

5. Через 5 хв після введення в пухлину підшлункової залози розрахованого за формулою об'єму дистильованої H_2O , на передній її поверхні необхідно встановити кріоаплікатор Ø 30 мм та провести два послідовні цикли кріофіксації універсальною кріохірургічною установкою «Кріо-Пульс» (період заморозки кожного циклу тривалістю 10 хв, період відтавання – спонтанний). Після завершення другого циклу кріофіксації пухлини виконуються класичні етапи операції в залежності від локалізації пухлини в проксимальному чи дистальному відділі залози.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Дронов О. І., Хоменко Д. І., Козачук Є. С. Потенціювання локальної кріодії дистильованою H_2O на моделі безпородних щурів з перевитою карциномою Герена за

умов збереженого кровотоку (*in vivo*). Експериментальна і клінічна медицина. 2018. № 1(78). С. 9–19. *(Здобувачем проведено порівняльний аналіз термограм щурів з перевитою карциномою Герена, обґрунтовано потенціуючий ефект введення дистильованої води в солідну пухлину до початку кріодії, написано статтю).*

2. Дронов О. І., Земсков С. В., **Хоменко Д. І.** Власний досвід визначення ізольованих пухлинних клітин в перитонеальних змивах хворих на рак підшлункової залози. Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. 2014. Вип. 23. Ч. 1. С. 192–197. *(Здобувачем організовано забезпечення виконання діагностики ізольованих пухлинних клітин в перитонеальних змивах хворих на рак підшлункової залози, безпосередня участь в операціях, написано статтю).*

3. Дронов О. І., Крючина Є. А., **Хоменко Д. І.**, Горлач А. І., Любенко Д. І., Добуш Р. Д., Козачук Є. С. Профілактика дисемінації клітин злоякісних пухлин підшлункової залози. Хірургія України. 2013. № 1. С. 92–99. *(Здобувачем визначено актуальність розробки методів профілактики інтраопераційної дисемінації пухлинних клітин під час радикальних оперативних втручаннях у хворих на рак підшлункової залози, написано статтю).*

**Статті у наукових фахових виданнях України,
включених до міжнародних наукометричних баз даних:**

4. Дронов О. І., **Хоменко Д. І.**, Бакунець П. П., Тетеріна В. В. Температурні показники після кріовпливу, потенційованою дистильованою водою, на експериментальній моделі печінки свині за умов відсутності спланхнічного кровотоку. Проблеми кріобіології і кріомедицини. 2017. № 27(4). С. 348–355. *(Здобувачем досліджено потенціуючі властивості дистильованої води під час локального кріовпливу на експериментальній моделі печінки свині за умов відсутності спланхнічного кровотоку, написано статтю).*

5. Дронов А. И., **Хоменко Д. И.**, Земсков С. В., Бакунець П. П., Козачук Е. С. Криофиксация резектабельной протоковой аденокарциномы поджелудочной железы. Хірургія України. 2017. № 4 (64). С. 27–34. *(Здобувачем запропоновано застосування нового методу контролю ефективності процесу кріофіксації резектабельної солідної пухлини підшлункової залози, написано статтю).*

Статті у наукових виданнях інших держав:

6. Дронов А.И., Ковальская И. А., **Хоменко Д. И.**, Жарков А. Я., Лещенко В. М., Крутько О.А., Козачук Е. С. Термометрия процесса локального криовоздействия в биологической ткани на дискретных глубинах: разработка комплекса измерительного интраоперационного термодарного четырех-канального (КИИТ-4). Хирургия. Восточная Европа. 2018. Т. 7. № 1. С. 102–110. *(Здобувачем запропоновано застосування розробленого вимірювального комплексу термодарного чотириканального для інтраопераційної реєстрації показників температури в біологічній тканині на дискретних глибинах, написано статтю).*

7. Дронов А. И., Земсков С. В., Бакунець П. П., Козачук Е. С., **Хоменко Д. И.** Криоабляционные технологии в комплексном лечении пациентов со злокачественной опухолью поджелудочной железы. Хирургия. Восточная Европа. 2017. Т. 6. № 3.

С. 411–422. *(Здобувачем особисто написано фрагмент статті, що пов'язаний із застосуванням методу кріофіксації при радикальному хірургічному лікуванні пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози).*

8. Дронов А. И., Ковальская И. А., **Хоменко Д. И.**, Земсков С. В. Клиническое значение и собственный опыт выявления циркулирующей опухолевой дезоксирибонуклеиновой кислоты у пациентов с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы. Хирургия. Восточная Европа. 2017. Т. 6. № 1. С. 36–42. *(Здобувачем проведено діагностику циркулюючої пухлинної ДНК у хворих на резектабельний рак підшлункової залози, написано статтю).*

9. Riva F., Dronov O. I., **Khomenko D. I.**, Huguet F., Louvet C., Mariani P., Stern M.-H., Lantz O., Proudhon C., Pierga J.-Y., Bidard F.-C. Clinical applications of circulating tumor DNA and circulating tumor cells in pancreatic cancer. Molecular Oncology. 2016. Vol. 10. № 3. P. 481–493. *(Здобувачем проведено глибокий аналіз сучасних діагностичних можливостей визначення циркулюючої пухлинної ДНК, циркулюючих пухлинних клітин у хворих на рак підшлункової залози, сформовано висновки).*

Патенти:

10. Дронов О. І., **Хоменко Д. І.**, Лещенко В. М., Жарков А. Я., Крутько О. А., Земсков С. В., Козачук Є. С. Патент на корисну модель №116730 Україна, МПК А61В 18/02 А61В 17/32. Комплекс вимірювальний інтраопераційний термопарний чотириканальний (КВІТ-4); власник Дронов О. І., Хоменко Д. І., Лещенко В. М., Жарков А. Я., Крутько О. А., Земсков С. В., Козачук Є. С. № у 201603076; заявлено 25.03.2016; опубліковано 12.06.2017; Бюл. 11. *(Здобувачем розроблено спосіб контролю показників температури на дискретних глибинах в біологічній тканині шляхом застосування мідь-константанових термопар Т-типу для контролю ефективності, оформлено патент).*

11. Дронов О. І., **Хоменко Д. І.** Патент на корисну модель №119932, Україна, МПК А61В 17/00 А61В 18/02. Спосіб посилення процесу кріофіксації резектабельної злоякісної солідної пухлини підшлункової залози дистильованою Н₂О. власник Дронов О. І., Хоменко Д. І. № у 201705020; заявлено 24.05.2017; опубліковано 10.10.2017; Бюл. 19. *(Здобувачем запропоновано спосіб введення в біологічну тканину, в тому числі пухлинну, дистильованої води за 5 хв до початку локальної кріодії, обґрунтовано потенціуючі ефекти даного способу на клінічних прикладах, оформлено патент).*

Тези наукових доповідей:

12. **Хоменко Д. І.**, Лук'янова Н. Ю., Оношко М. М., Козачук Є. С. Результати дослідження морфологічних змін клітин карциноми Герена в залежності від часу експозиції в розчині дистильованої Н₂О. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених: 40-а ювілейна науково-практична конференція молодих вчених Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика з міжнародною участю, присвячена Дню науки, м. Київ, 18 травня 2017 року: тези доповіді. Київ, 2017. С. 91–93. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, їхнє узагальнення та написання тез доповідей).*

13. Dronov O. I., Kovalska I. O., **Khomenko D. I.**, Kozachuk Y. S., Bakunets P. P., Zemskov S. Cryofixation of Pancreas Resectable Malignant Solid Tumors. 19th World Congress of International Society of Cryosurgery, Kaunas, Lithuania, September 13–15, 2017: abstract book. Kaunas, 2017. P. 26–28. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, їхнє узагальнення та написання тез доповідей).*

14. **Khomenko D.**, Kosachuk E., Teterina V. Potentiation of local cryoablation process on biological tissue via distilled H₂O. 68th Congress of the Association of Polish Surgeons, Cracow, September 27–30, 2017: abstract book. Cracow, 2017. P. 504. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, їхнє узагальнення та написання тез доповідей).*

15. Dronov O. I., Zemskov S. V., **Khomenko D. I.** Clinical significance of the isolated tumor cell detection in the peritoneal lavage solution in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. Integrated clinical and pathogenetic approaches in diagnosis and therapy of cancer: International scientific conference, Kyiv, June 13–15, 2016: materials. Experimental Oncology. – 2016. Vol. 38. №2. P. 131–132. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, їхнє узагальнення та написання тез доповідей).*

16. Дронов А.И., Бакунец П. П., Земсков С.В., **Хоменко Д. И.**, Козачук Е. С. Метод криодеструкции в лечении больных с опухолью поджелудочной железы. Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии: XXIV Международный Конгресс Ассоциации гепатопанкреато-билиарных хирургов стран СНГ, г. Санкт-Петербург, 19–22 сентября 2017 года: тезисы доклада. СПб., 2017. С. 158. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, їхнє узагальнення та написання тез доповідей).*

17. **Хоменко Д. І.**, Лук'янова Н. Ю., Козачук Є. С. Результати дослідження процесу локальної кріодії на експериментальних моделях розчинів 36 % NaCl, дистильованої H₂O та 0,9 % NaCl та перспективи їх застосування при проведенні кріофіксації солідних пухлин підшлункової залози. Здобутки клінічної та експериментальної медицини: Підсумкова науково-практична конференція, присвячена 60-річчю Тернопільський державний медичний університет, м. Тернопіль, 14 червня 2017 р.: тези доповіді. Тернопіль, 2017. С. 182–184. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, їхнє узагальнення та написання тез доповідей).*

АНОТАЦІЯ

Хоменко Д. І. Оптимізація методу кріофіксації при хірургічному лікуванні пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.03 «Хірургія». – Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України, Київ, 2019.

У дисертаційній роботі представлено результати експериментально-клінічного дослідження, в процесі проведення якого було вирішено ряд нових наукових завдань, що дозволило досягти поставленої мети – достовірно покращити віддалені результати хірургічного лікування хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози

шляхом удосконалення методу кріофіксації.

Оптимізація методу кріофіксації, шляхом розробки та впровадження в клінічну практику способу кріопотенціювання, що полягає в попередньому введенні в солідну злякисну резектабельну пухлину підшлункової залози дистильованої H₂O за 5 хв до початку локальної кріодії кріоаплікатором Ø 30 мм з набору універсальної кріохірургічної установки «Кріо-Пульс» подвійним циклом зі спонтанним періодом відтавання після 10 хв кожного періоду заморозки та інтраопераційним контролем ефективності кріофіксації шляхом термометрії на дискретних глибинах мідь-константановими термопарами Т-типу довжиною 3, 8, 13 та 18 мм, дозволив достовірно збільшити кумулятивну виживаність хворих на незапальні захворювання підшлункової залози в основній групі (Д+К+Р) в термін спостереження 18 місяців до 74,7 %, що перевищував відповідний показник в групі порівняння (Р) на 32,5 % та на 25,2 % – в групі порівняння (К+Р) на рівні значущості ($\chi^2=7,35$; $p=0,025$).

Ключові слова: незапальні захворювання підшлункової залози, рак підшлункової залози, кріофіксація пухлини, термопара, протокова аденокарцинома підшлункової залози, кріопотенціювання, дистильована вода.

АННОТАЦИЯ

Хоменко Д. И. Оптимизация метода криофиксации при хирургическом лечении пациентов с невоспалительными заболеваниями поджелудочной железы. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.03 «Хирургия». – Государственное учреждение «Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова» НАМН Украины, Киев, 2019.

В диссертационной работе представлены результаты экспериментально-клинического исследования, в процессе проведения которого был решен ряд новых научных задач, что позволило достичь поставленной цели – достоверно улучшить отдаленные результаты хирургического лечения больных с невоспалительными заболеваниями поджелудочной железы путем усовершенствования метода криофиксации.

В эксперименте на моделях *in vitro* и *in vivo*, было обосновано эффективность применения предварительного введения в биологическую ткань дистиллированной H₂O с целью потенцирования локального криовоздействия: установлено достаточно минимальную продолжительность времени экспозиции, с момента введения в биологическую ткань дистиллированной H₂O, до начала процесса локального криовоздействия, что составило 5 мин; разработано формулу расчета объема дистиллированной H₂O, что нужно ввести в солидную опухоль с целью криопотенцирования ($V_{д.в.} = V_o \times 0,38$); методом цитоморфометричного анализа установлено, что через 5 мин после введения в опухолевую ткань дистиллированной H₂O площадь поперечного сечения опухолевых клеток увеличивается не менее чем в 3,4 раза за счет осмотического отека.

Установлено значение массивного теплоприведения от магистральных сосудов

в проекции задней поверхности головки поджелудочной железы, как фактора, ухудшающего эффективность криофиксации резектабельной опухоли проксимального отдела железы криоапликатором Ø 30 мм с продолжительностью периода заморозки каждого цикла 10 мин и спонтанным периодом оттаивания (средняя температура по показателю термопары длиной 18 мм составляла $(2,3 \pm 2,1)^\circ \text{C}$ в конце 10-й мин периода заморозки 2-го цикла криофиксации, при этом в сосудах гемомикроциркуляторного русла опухоли на этой глубине отсутствовали тромбозы, а количество жизнеспособных опухолевых клеток превышало 95 %).

Установлено наличие линейной корреляционной связи ($R = -0,980$; $p = 0,020$) между значением достигнутой средней температуры по показателям медь-константановых термопар Т-типа на дискретных глубинах (3, 8, 13 и 18 мм) от рабочей поверхности криоапликатора Ø 30 мм в конце 10-й мин периода заморозки 2-го цикла криофиксации в резектабельной солидной опухоли поджелудочной железы и процентом опухолевых клеток, погибших в результате первичного криоповреждения в фиксированных точках в опухолевой ткани, которая подвергалась криофиксации.

Разработана эффективная методика потенцирования процесса криофиксации дистиллированной H_2O резектабельных солидных злокачественных опухолей поджелудочной железы, что позволило получить средние температуры в диапазоне минусовых значений в конце 10-й мин второго цикла заморозки, которые в $(2,1 \pm 0,2)$ раза превышают значения температур, где криопотенцирование не применялось – при локализации опухоли в проксимальном отделе поджелудочной железы, и в $(1,85 \pm 0,24)$ раза – при локализации опухоли в дистальном отделе поджелудочной железы.

Было установлено, что средний V_o по данным магнитно-резонансной панкреатохолангиографии составлял $(22,4 \pm 2,9) \text{ см}^3$ (95 % ДИ: 16,2–28,5 см^3), V_o по данным мультиспиральной компьютерной томографии – $(21,2 \pm 2,8) \text{ см}^3$ (95 % ДИ: 15,1–27,3) фактический объем удаленной опухоли – $(21,8 \pm 2,3) \text{ см}^3$ (95 % ВИ: 16,9–26,7). Таким образом V_o по данным магнитно-резонансной панкреато-холангиографии, мультиспиральной компьютерной томографии достоверно не отличается от фактического объема удаленной опухоли на уровне значимости, $p = 0,951$.

Оптимизация метода криофиксации, путем разработки и внедрения в клиническую практику способа криопотенцирования, заключающийся в предварительном введении в солидную злокачественную резектабельную опухоль поджелудочной железы дистиллированной H_2O за 5 мин до начала локального криовоздействия криоапликатором Ø 30 мм из набора универсальной криохирургической установки «Крио-Пульс» двойным циклом со спонтанным периодом оттаивания после 10 мин каждого периода заморозки и интраоперационным контролем эффективности криофиксации путем термометрии на дискретных глубинах медь-константановыми термопарами Т-типа длиной 3, 8, 13 и 18 мм позволил достоверно увеличить кумулятивную выживаемость больных с

невоспалительными заболеваниями поджелудочной железы в основной группе (Д+К+Р) в срок наблюдения 18 месяцев до 74,7 %, что превышало соответствующий показатель в группе сравнения (Р) на 32,5 % и на 25,2 % – в группе сравнения (К+Р) на уровне значимости ($\chi^2=7,35$; $p=0,025$).

Ключевые слова: невоспалительные заболевания поджелудочной железы, рак поджелудочной железы, криофиксация опухоли, термопара, протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, криопотенцирование, дистиллированная вода.

SUMMARY

Khomenko D.I. Optimization of the method of cryofixation in the surgical treatment of patients with non-inflammatory diseases of the pancreas. – On the rights of the manuscript.

Dissertation for searching of scientific degree of Candidate of Medical Sciences in specialty 14.01.03 “Surgery” – State Institution «O. O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, 2019.

The dissertation presents the results of experimental and clinical research, in the course of which a number of new scientific problems were solved, which allowed to achieve the goal – to significantly improve the long-term results of surgical treatment of patients with non-inflammatory diseases of the pancreas by improving the method of cryofixation.

Optimization of the method of cryofixation by developing and introducing into the clinical practice a method of cryopotentialization consisting in preliminary injection into a solid malignant resectable tumor of distilled H₂O for 5 min prior to the onset of local cryoablation by a cryoapplicator device Ø 30 mm from a set of a universal cryosurgical unit "Cryo-Pulse" with a double cycle with a spontaneous thawing period after 10 minutes of each freezing period and an intraoperative control of cryofixation efficacy by thermometry at discrete depths copper-constantan thermocouples of T-type with lengths (3, 8, 13 and 18 mm), has allowed to significantly increase cumulative survival of patients with non-inflammatory diseases of the pancreas in the main group (D + C + R) with an observation period of 18 months to 74,7 %, which exceeded the corresponding indicator in the comparison group (P) by 32,5 % and 25,2 % – in the comparison group (C + R) at the level of significance ($\chi^2=7,35$; $p=0,025$).

Key words: non-inflammatory diseases of the pancreas, pancreatic cancer, cryofixation of the tumor, thermocouple, ductal adenocarcinoma of the pancreas, cryopotentialization, distilled water.