

ПРОФИЛАКТИКА ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ ЛИМФОРЕИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРЕПАРАТОМ «ТАХОКОМБ» (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Митин С.С., Ануфриева С.С., Куренков Е.Л.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский Государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, e-mail: mitin_sergey@list.ru

Целью исследования явилось изучение тканевой реакции на использование местных гемостатических препаратов как при оперативном лечении рака молочной железы, так и для профилактики послеоперационной лимфорей. Исследование проводилось в два этапа. Изучалась сравнительная реакция тканей подопытных крыс на имплантацию гемостатического препарата Тахокомб и коллагеновой гемостатической губки. В ходе проведения эксперимента было выявлено, что применение Тахокомба не вызывает гранулематозного воспаления в тканях подопытных крыс, отмечена ранняя элиминация препарата (до 30 суток) с формированием нежного послеоперационного рубца. Экспериментальная часть работы выполнена на 96 половозрелых крысах женского пола массой тела 200–250 г. Весь этап экспериментального исследования выполнялся по Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ МЗ СССР № 755 от 12.09.1977 г.) и принципам, изложенным в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (г. Страсбург, Франция, 1986 г.). Клинический этап исследования доказал эффективность применения Тахокомба для профилактики послеоперационной лимфорей, уменьшение сроков стояния контрольного дренажа в подкрыльцовой ямке до $12,3 \pm 1,8$ дня. Клиническое использование препарата Тахокомб при оперативном лечении у пациенток с раком молочной железы доказало эффективность профилактики длительной лимфорей.

Ключевые слова: Тахокомб, гемостатическая губка, реакция тканей на имплантацию, послеоперационная лимфорей, профилактика

PREVENTION OF POSTOPERATIVE LYMPHORRHA IN BREAST CANCER BY "TACHOKOMB" PREPARATION (EXPERIMENTAL-CLINICAL STUDIES)

Mitin S.S., Anufrieva S.S., Kurenkov E.L.

South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, e-mail: mitin_sergey@list.ru

The aim of the research was to study the tissue response to the use of local hemostatic drugs in the surgical treatment of breast cancer, and for the prevention of postoperative lymphorrhoea. The research was undertaken in two stages. There was studied the comparative reaction of the tissues of experimental rats to the implantation of the hemostatic drug tachocomb and collagen hemostatic sponge. During the experiment, it was found that the use of Tachocomb does not cause granulomatous inflammation in the tissues of experimental rats. There was indicated the early elimination of the drug (up to thirty days), with the formation of a smooth postoperative scar. The experimental part of the work was performed on 96 mature female rats weighing 200–250 g. The entire stage of the experimental study was carried out according to the Rules of work with the use of experimental animals (order of the Ministry of health of the USSR № 755 of 12.09.1977) and the principles set forth in the European Convention for the protection of vertebrates used for experiments or other scientific purposes (Strasbourg, France, 1986). The clinical stage of the research proved the effectiveness of Tachocomb for the prevention of postoperative lymphorrhoea and reduction of the duration of control drainage in the axillary fossa to 12.3 ± 1.8 days. Clinical use of the drug tachocomb in surgical treatment of patients with breast cancer has proved its effectiveness in the prevention of long-term lymphorrhoea.

Keywords: TachoComb, hemostatic sponge, tissue reaction to implantation

Анализ исследований, посвященных различным методикам оперативного лечения паренхиматозных органов, показал частое применение гемостатических губок, осуществляющих гемостаз [1–4]. К часто используемым средствам местного применения относятся гемостатические губки, служащие для формирования кровяного сгустка

посредством улавливания тромбоцитов коллагеновым матриксом [5–8]. В доступной нам литературе не встречалось упоминаний о применении Тахокомба в качестве средства для профилактики лимфореи, что обусловило актуальность проведения нашего исследования [9–12].

Основным направлением нашего исследования явился сравнительный анализ клеточной реакции тканей, характеристики воспалительного процесса, сроков элиминации из ткани, формирования соединительнотканного рубца на имплантацию коллагеновой гемостатической губки Тахокомб производства фирмы Такеда (Австрия) и губки коллагеновой гемостатической производства Лужского завода «Белкозин», а также возможности применения данных материалов для предотвращения продолжительной лимфореи у пациенток по поводу злокачественного поражения молочных желез.

Материалы и методы исследования. Проведенное исследование является проспективным, рандомизированным, включающим в себя два этапа. В соответствии с целью исследования были выделены 2 группы в зависимости от этапа исследования. Экспериментальный этап: 200–250-граммовые половозрелые крысы были разделены на 2 группы в зависимости от применяемого материала: I группе имплантировался Тахокомб, во II группе использовалась гемостатическая губка.

Содержание и проведение эксперимента осуществлялось в рамках правил и требований к использованию экспериментальных животных [13, 14].

Перед оперативным вмешательством крысам проводилась стандартная предоперационная подготовка, обработка области операции, после операции – послеоперационное ведение ран. Под внутривенным наркозом производился разрез кожи длиной 15 мм. В образовавшуюся рану, в подкожно-жировую клетчатку, укладывался фрагмент губки в зависимости от групп исследования размерами 10x10 мм. Животные выходили из эксперимента на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 30-е и 60-е сутки на каждом сроке исследования равными группами.

Полученный материал фиксировался и обрабатывался по общепринятым методикам, с более подробным изучением плотности зон некроза соединительной ткани.

Основным направлением экспериментального этапа явилось изучение реакции подкожно-жировой клетчатки на инородный материал, в рамках которого анализировались: клеточная реакция на воспаление (состав воспалительного инфильтрата), размер зоны некроза, сроки элиминации материала, состав формирующихся коллагеновых волокон вокруг материала, а также характеристика сформированного рубца.

В рамках клинического этапа были проведены мастэктомии 20 пациенткам, оперированным по поводу рака молочной железы. Эффективность применения Тахокомба

оценивалась на основании следующих данных: длительность и объем лимфорей, сроки снятия редон-дренажа, клеточный состав выделяемой лимфы. Полученный в рамках исследования материал подвергался математико-статистическому анализу с использованием статического пакета «Statistica 6,0». В рамках математико-статистического анализа проводился расчет арифметической средней, стандартной ошибки арифметической средней, среднего квадратного отклонения. Статистическая значимость различий сравниваемых признаков в группах проводилась с помощью непараметрического U-теста Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Морфологическое изучение тканевых срезов выведенных из эксперимента животных на 1-е и 3-и сутки показало, что в I группе в зоне операции визуализировались незначительный отек тканей, минимальное количество некротических элементов, незначительная инфильтрация полиморфно-ядерными клеточными элементами, что подтверждается выявленными статистически достоверными различиями. Так, при оценке клеточного состава тканей в области исследуемого материала зафиксирована значительная яркая полиморфно-ядерная инфильтрация тканей во II группе: $73,4 \pm 3,6\%$ приходилось на долю нейтрофилов в 1-е сутки, $47,1 \pm 3,8\%$ – в I группе; на 3-и сутки отмечался пик подъема до $91,1 \pm 4,8\%$ и $66,9 \pm 3,4\%$ по группам соответственно. На 14-е сутки в тканях крыс II группы объемное количество нейтрофилов составило $39,2 \pm 3,2\%$, в I группе – $20,6 \pm 2,8\%$ (различия статистически значимы для перечисленных показателей, $p < 0,05$ Манна–Уитни).

В составе воспалительно-клеточной инфильтрации нами также анализировался состав других клеточных элементов: макрофагов, эозинофилов, лимфоцитов, наивысшее число которых приходилось на 7-е сутки: $8,8 \pm 0,5\%$, $6,2 \pm 0,8\%$, $15,1 \pm 1,4$ – I группа; $6,2 \pm 0,9\%$, $4,7 \pm 0,5\%$, $20,6 \pm 1,1\%$ – II группа (различия статистически значимы для перечисленных показателей, $p < 0,05$ Манна–Уитни).

На долю общей плотности зоны некроза в I группе приходилось $15,8 \pm 1,5\%$, и $19,7 \pm 2,2\%$ в 1-е и на 3-и сутки соответственно в сравнении со II группой, в которой отмечалась значительная плотность некротических тканей: $17,9 \pm 1,5\%$ – в 1-е сутки, $24,3 \pm 1,8\%$ – к 3-м суткам с сокращением зоны некроза к 7-м суткам – $9,8 \pm 1\%$ (рис. 1, 2).

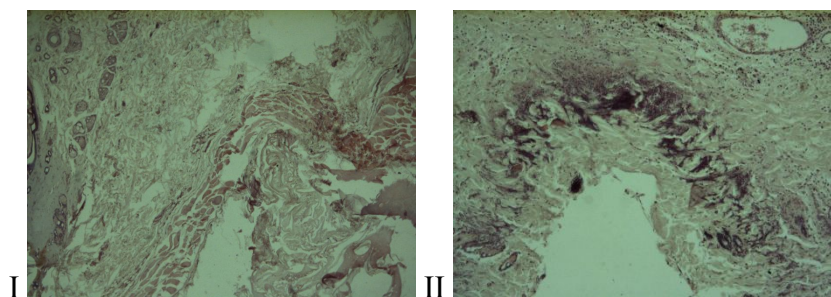


Рис. 1. Микропрепарат тканей крыс в 1-е сутки эксперимента: I. В окружающей Тахокомб ткани умеренный отек; II. Интенсивная воспалительно-клеточная реакция, отек, полнокровие сосудов в зоне имплантации гемостатической губки; окраска гематоксилином и эозином. x100

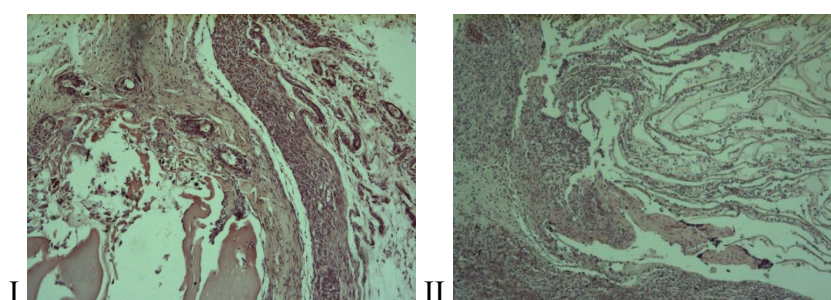


Рис. 2. Микропрепарат тканевых срезов на 3-и сутки эксперимента: I. Вокруг Тахокомба зона некроза со скудным демаркационным валом; II. Элементы губки окружены обширным демаркационным воспалением, отторгшиеся некротические массы; окраска гематоксилином и эозином. x100

Оценка плотности соединительнотканного компонента в области аппликации материала показала, что у крыс I группы к 3-м суткам отмечается появление коллагеновых волокон в объемном отношении $12,1 \pm 1,4\%$ с дальнейшим ростом до $45,2 \pm 2,3\%$ на 7-е сутки, с пиком к 14-м суткам до $47,8 \pm 2,5\%$. В последующем отмечалось понижение плотности коллагеновых волокон к 30-м суткам до $36,6 \pm 2,1\%$. С 7-х суток вокруг зоны операции отмечались отсутствие элементов некроза тканей, формирование соединительной ткани, активное замещение элементов губки, некротических элементов. При микроскопии часть губки Тахокомба имеет четкую, плотную, гомогенную структуру, без явлений лизиса.

В группе сравнения, так же как и рабочей группе, в 1-е сутки не происходит формирования соединительной ткани, к 3-м суткам объемная плотность соединительнотканного компонента составляла $7,1 \pm 1,3\%$ с дальнейшим ростом на 14-е сутки до $56,3 \pm 3\%$. Гемостатическая губка при микроскопии имеет неоднородную, рассыпчатую архитектуру, плохо окрашивается, тогда как Тахокомб имел гомогенную, плотную структуру, равномерно окрасился в ярко-розовый цвет.

Увеличение числа фибробластов до $28,2 \pm 2,4\%$, в тканях I группы в зоне повреждения отмечалось с 3-х суток с увеличением к 7-м суткам плотности соединительнотканного компонента.

Образование зрелой соединительной ткани, отсутствие полиморфно-ядерной инфильтрации, замена фуксинофильными волокнами элементов губки Тахокомб отмечались к 30-м суткам. Число фибробластов и объемная плотность соединительных волокон в зоне рубца уменьшались до $68,1 \pm 4,6$ и $36,6 \pm 2,1\%$ соответственно (рис. 3).

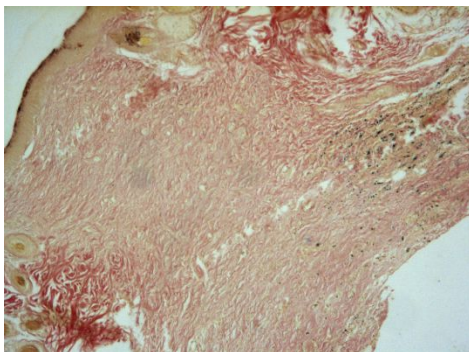


Рис. 3. 30-е сутки – лизис Тахокомба, замена зоны некроза фуксинофильными волокнами; окраска пикрофуксином по Ван Гизону. $\times 100$

На 30-е сутки во II группе количественное содержание фибробластов и плотность соединительной ткани составляли $49,3 \pm 3,9\%$ и $51,1 \pm 2,5\%$ соответственно.

На 60-е сутки в I группе после полного замещения коллагеновой пластины имелся плотный рубец, состоящий из зрелой соединительной ткани, отмечались отсутствие воспалительной инфильтрации, умеренное содержание фибробластов – $25,6 \pm 2,7\%$ (рис. 4).

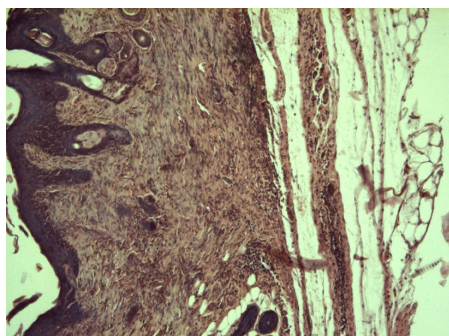


Рис. 4. 60-е сутки – в месте имплантации Тахокомба – плотная оформленная соединительная ткань, окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

Во II группе, в отличие от I группы, к 14-м суткам в тканевых срезах, имеющих гемостатическую губку, отмечались сохранившаяся инфильтрация клетками воспаления вокруг коллагеновой пластины, расширение плотности соединительного матрикса, при этом сохранялись фрагменты губки (рис. 5).

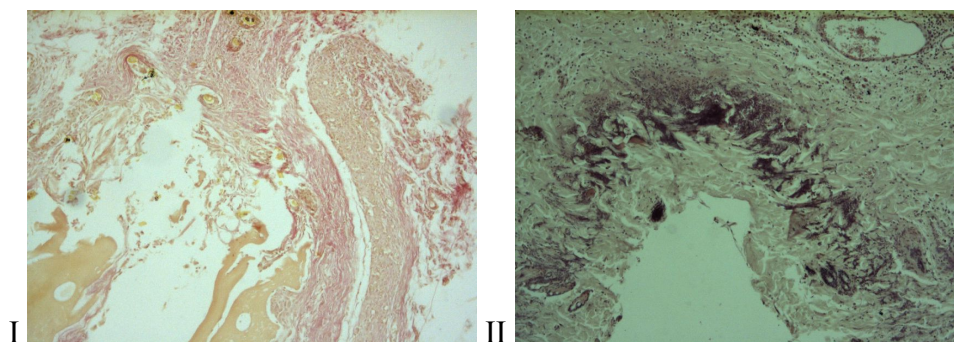


Рис. 5. Микропрепарат тканей крыс на 14-е сутки эксперимента:

I. Ткани после имплантации Тахокомба; II. Ткани с гемостатической губкой, окраска гематоксилином и эозином. x100

На 30-е сутки в тканях крыс отмечалось формирование гранулематозного воспаления с оставлением нейтрофильной ($1,8 \pm 1\%$), макрофагальной ($2,9 \pm 0,7\%$), эозинофильной ($0,3 \pm 0,1\%$), лимфоцитарной ($2 \pm 0,7\%$), плазмоцитарной ($3,9 \pm 0,7\%$) инфильтрации (различия статистически значимы для перечисленных показателей по сравнению с группой I, $p < 0,05$, критерий Манна–Уитни), при этом происходила полная элиминация гемостатической губки. (рис. 6).

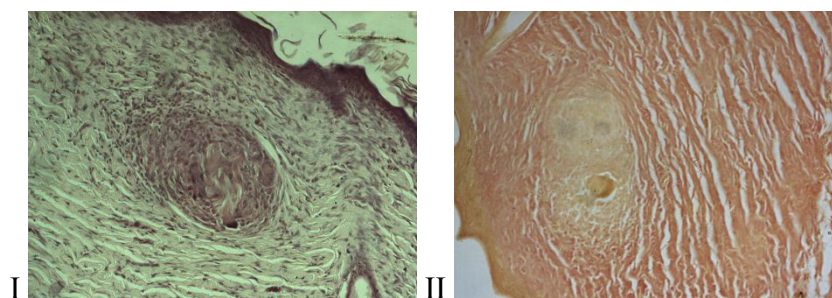


Рис. 6. 30-е сутки – элементы губки отсутствуют, в элементах дермы имеется гранулема (гранулематозное воспаление). I – окраска гематоксилином и эозином, x200; II – В матриксе дермы гранулема; окраска пикрофуксином по Ван Гизону. x200

Таким образом, полученные результаты сравнительного анализа морфологического и морфометрического исследования тканей подопытных крыс после имплантации Тахокомба и гемостатической губки показывают, что при использовании Тахокомба в тканях подопытных крыс выявляется слабая воспалительно-клеточная реакция, лизис изучаемого материала отмечается на 30-е сутки с образованием зрелого соединительнотканного рубца к 60-м суткам. Данные результаты исследования позволили нам обосновать целесообразность использования Тахокомба в клинической практике при выполнении мастэктомии с лимфаденэктомией для профилактики длительной лимфореи.

В IA клинической группе у больных раком молочной железы, оперированных с использованием стандартной методики с применением редон-дренажа, продолжительность лимфореи составила $22,94 \pm 2,7$ дня, при этом общий объем эвакуированной лимфы был равен $1005,48 \pm 47,3$ мл. Срок стояния дренажа составил $19,2 \pm 2,6$ суток. Закрытие пластиной Тахокомб дефекта тканей, образовавшегося вследствие лимфаденэктомии в подкрыльцовой ямке, в клинической группе ПА позволило значительно уменьшить продолжительность вакуумного дренирования раны — до $12,3 \pm 1,8$ дня. При этом объем лимфореи в данной группе больных составил $289,5 \pm 46,2$ мл (различия в группах IA и ПА статистически значимы для перечисленных показателей, $p < 0,05$, критерий Манна–Уитни).

Цитологическое изучение продуцируемого экссудата в клинической группе IA проявлялось выраженным лейкоцитарным клеточным составом, сохраняющимся до последнего дня дренирования послеоперационной раны, и составил $20,9 \times 10^9$. У пациенток ПА клинической группы отмечалось уменьшение воспалительного клеточного компонента экссудата на 7-е сутки и составило на момент удаления дренажа $5,6 \times 10^9$.

Выводы. Проведенное нами экспериментально-клиническое исследование показало значительную эффективность применения коллагеновой губки Тахокомб для профилактики лимфореи у пациенток, оперированных по поводу рака молочной железы. Использование Тахокомба в тканях характеризуется отсутствием гранулематозного воспаления, в кратчайшие сроки происходит полная элиминация материала — до 30 суток, в сравнении со гемостатической коллагеновой губкой, выпускаемой заводом «Белкозин». Полученные нами результаты исследования позволяют предположить эффективность использования губки Тахокомб и при других обширных хирургических вмешательствах, сопровождающихся лимфореей и капиллярным кровотечением.

Список литературы

1. Горский В.А., Шуркалин Б.К. Первый опыт закрытия перфоративного отверстия пилородуоденальной зоны препаратом «Тахокомб» без предварительного ушивания // Хирургия. 1999. №8. С. 60-61.
2. Горский В.А. Технические аспекты аппликации биополимера Тахокомб при операциях на органах брюшной полости // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. 2001. № 5. С. 43-46.
3. Бунатян А.Г., Завенян З.С., Багмет Н.Н. Проблемы гемостаза и герметизма при резекциях печени с использованием фибрин- коллагеновой субстанции // Хирургия. 2003. №9. С. 18-23.
4. Скипенко О.Г., Шатверян Г.А. Применение покрытия «Тахокомб» при хирургических вмешательствах на печени и поджелудочной железе // Хирургия. 1998. № 1. С. 11-14.

5. Santulli P. et al. Experience with TachoSil in obstetric and gynecologic surgery. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2011 May. V.113(2). P. 112-115.
6. Raiffort C. et al. Patient eligibility criteria for a surgical treatment that enhances tissue sealing by use of a medicated sponge: observational study ELITE. *Springerplus.* 2013. Nov. V.18. №2. P. 613.
7. Maggiori U.L.R. et al. TachosilR application after laparoscopic myomectomy: a prospective randomized trial. *Italian Journal of Gynaecology and Obstetrics.* 2011. V.23(4). P. 147–154.
8. De Iaco et al. Fibrinogen and thrombin coated patch use on collagen support for lymphocele prevention after lumbar-aortic lymphadenectomy in gynecological neoplasms. *Minerva Ginecol.* 2011. Oct. V.63(5). P. 471-473.
9. Ghelardi A. et al. Inguinofemoral lymphadenectomy in patients undergoing radical vulvectomy for vulvar cancer. A new patch is able to reduce lymphatic complications. *It. J. Gynaecol. Obstet.* 2011. V.23. №. 4.
10. Buda A. et al. The contribution of a collagen–fibrin patch (Tachosil) to prevent the postoperative lymphatic complications after groin lymphadenectomy: a double institution observational study. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2016. V. 197. P. 156–158.
11. Tinelli A. et al. Lymphocele prevention after pelvic laparoscopic lymphadenectomy by a collagen patch coated with human coagulation factors: a matched case-control study. *International Journal of Gynecological Cancer.* 2013. V. 23. № 5. P. 956–963.
12. Santulli P. et al. Experience with TachoSil in obstetric and gynecologic surgery. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2011. May. V.113(2). P. 112–115.
13. Navarro-Rodriguez E., Gomez-Luque I., Diaz-Jimenez N., Rioja-Torres P., Bascunana-Estudillo G., Ruiz-Rabelo J.F., Ciria-Bru R., Alvarez-Benito M., Rufián-Pena S., Briceno-Delgado J. Effectiveness of an absorbable fibrin sealant patch to reduce lymphoceles formation after axillary lymphadenectomy for breast cancer: a matched-pair analysis. *Am. J. Surg.* 2014. Nov. V. 208(5). P. 824–830.
14. Gianluca Di Monta et al. Collagen sealant patch to reduce lymphatic drainage after lymph node dissection. *World Journal of Surgical Oncology. Am. J. Surg.* 2012. V.10. P. 275.