

**Медицински Университет – Плевен  
Факултет по Здравни грижи, Катедра „Акушерски грижи“  
Клиника по Онкогинекология**

**д-р ТОДОР ИВАНОВ ДИМИТРОВ**

**ЦИТОКИНОВ ПРОФИЛ ПРИ ЖЕНИ С ОБЕЗИТАС В I<sup>ВИ</sup>  
СТАДИЙ НА ЕНДОМЕТРИАЛЕН КАРЦИНОМ ОПЕРИРАНИ  
ЧРЕЗ РОБОТИЗИРАНА И КОНВЕНЦИОНАЛНА  
ХИРУРГИЧНА ИНТЕРВЕНЦИЯ**

## **А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

на дисертация за присъждане на научна  
и образователна степен „Доктор“

### **НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ**

03.01.45 – Акушерство и Гинекология

### **НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:**

Чл. кор. проф. д-р Григор Горчев, д.м.н.

### **РЕЦЕНЗЕНТИ:**

Проф. д-р Славчо Томов Томов, д.м.н. – МУ-Плевен  
Проф. д-р Асен Иванов Николов, д.м.н. – УАГБ „Майчин дом“-София

Плевен, 2016г.

Дисертационният труд е представен на 137 страници и е онагледен с 25 фигури и 5 таблици.

Библиографията обхваща 363 литературни източника, от които 32 на кирилица и 331 на латиница.

Изследванията свързани с дисертацията са извършени в Клиника по Онкохирургия, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, гр. Плевен.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита на Разширен катедрен съвет на катедра „Акушерски грижи“ при МУ - Плевен.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 06.04. 2016г. от 13:00 ч. в зала „Амброаз Паре“, ТЕЛЕЦ, Медицински университет – Плевен на открито заседание на научно жури в състав:

#### **Председател:**

Проф. д-р Славчо Томов Томов, д.м.н. – МУ-Плевен

#### **Членове:**

Чл. кор. проф. д-р Григор Ангелов Горчев, д.м.н. – МУ-Плевен

Проф. д-р Славчо Томов Томов, д.м.н. – МУ-Плевен

Проф. д-р Асен Иванов Николов, д.м.н. – УАГБ „Майчин дом“-София

Проф. д-р Явор Димитров Корновски, д.м.н. – МУ-Варна

Доц. д-р Елена Димитрова Димитракова, д.м. – МУ-Плодив

#### **Резервни членове:**

Доц. д-р Надежда Христова Хинкова, д.м. – МУ-Плевен

Проф. д-р Стефан Иванов Иванов, д.м.н. – МУ-Варна

Материалите по защитата на дисертационния труд са публикувани на страницата на МУ – Плевен - [www.mu-pleven.bg](http://www.mu-pleven.bg).

## **Съдържание<sup>1</sup>**

УВОД	4
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	6
ВЪВЕДЕНИЕ	8
МАТЕРИАЛ	20
МЕТОДИ	22
РЕЗУЛТАТИ	25
РЕЗУЛТАТИ ПО ПЪРВА ЗАДАЧА	25
РЕЗУЛТАТИ ПО ВТОРА ЗАДАЧА	28
РЕЗУЛТАТИ ПО ТРЕТА ЗАДАЧА	30
РЕЗУЛТАТИ ПО ЧЕТВЪРТА ЗАДАЧА	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	45
ИЗВОДИ	47
ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	48
СПИСЪК НА НАУЧНИТЕ ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	49

---

<sup>1</sup> *Номерата на фигурите, таблиците и графиките не съответстват на номерата в дисертационния труд*

## **Съкращения**

**BMI** – Body Mass Index (Индекс на Телесната Маса)

**IL-6** – Интерлевкин 6

**IL-8** – Интерлевкин 8

**IL-10** – Интерлевкин 10

**TNF- $\alpha$**  – Тумор-некротичен фактор ( $\alpha$ )

**CRP** – С-реактивен протеин

**CSIF** – Цитокин-синтезис инхибиторен фактор

**WHO** – Световна здравна организация

**EMKP** – Ендометриален канцерогенен риск

**ASA** – American Society of Anesthesiologist

**PETscan** – Позитронно-емисионна томография

**R** – Роботизирана/миниинвазивна хирургия

**O** – Отворена/конвенционална хирургия

## УВОД

Ендометриалният карцином е най-честия гинекологичен карцином. Въпреки прогреса на диагностичните и терапевтични възможности, броят на раковите заболявания и смъртност се увеличават в цял свят. Увеличението е свързано както с по-високите възможности за диагностика, така и със зачестяване на отключващите патогенетични механизми, свързани със съвременния начин на живот: наднормено тегло, хипокинезия, метаболитни и хормонални нарушения. Оптимистичното е, че 53 % от диагностицираните случаи на ендометриален карцином са в I<sup>ВН</sup> стадий, когато могат да се приложат и най-успешно терапевтичните възможности.

Наднорменото тегло в различни степени, особено болестни такива ( $BMI > 40 \text{ kg/m}^2$ ) е тясно свързано с патогенезата на ендометриалния карцином, но също така е и „ограничаващ фактор“ за избор на хирургична процедура поради затруднение с белодробна вентилация, тренделенбург позиция и постоперативни усложнения. Въпреки възможността за ранна клинична диагностика и наличието на съвременни анестезиологични, фармакологични, технологични възможности за оперативна интервенция (като миниинвазивна хирургия), смъртността на жените с диагностициран ендометриален карцином остава все още висока, което налага комплексна имунологична оценка.

В практика на гинекологите хирурзи, все повече се повишава интересът към групата на цитокините като независими прогностични фактори – маркери за агресивност и възможност за терапевтично повлияване на неопластичния процес. Цитокините са имунологични продукти, които са белег за биологичното равновесие и могат да променят програмируемата клетъчна смърт.

Комплексната оценка на имунологично ниво на нарушенията във вътреклетъчния метаболизъм е база за

диференциален подход за предвиждания, касаещи индивидуалните различия в неопластичната агресия, влиянието на анестезията и оперативната интервенция, следоперативното възстановяване и прогноза. Това е от изключителна значимост при пациенти с наднормено тегло, а и затлъстяването се превръща в световен медикосоциален проблем.

Навлизането на миниинвазивната хирургия, като оперативно технологична възможност, допринася за намаляване на кръвозагубата и следоперативните усложнения, намаляване на психологическия стрес и времето на хоспитализация, водещи до намаляване и на себестойността на лечението. От 2008 г. роботизирана система "Da Vinci" се използва и в България - Клиника по Онкогинекология, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“, гр. Плевен.

В България не са правени проучвания за нивото на цитокини при неопластични процеси, в частност ендометриален карцином и влиянието на оперативната интервенция.

В настоящата дисертация са представени изследвания свързани с проследяването на цитокиновия профил, при лечение на жени с наднормено тегло в I<sup>ВМ</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана и отворена хирургия.

## ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Изследване ролята на роботизираната хирургия при лечение на жени с наднормено тегло в I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином чрез определяне на цитокинов профил.

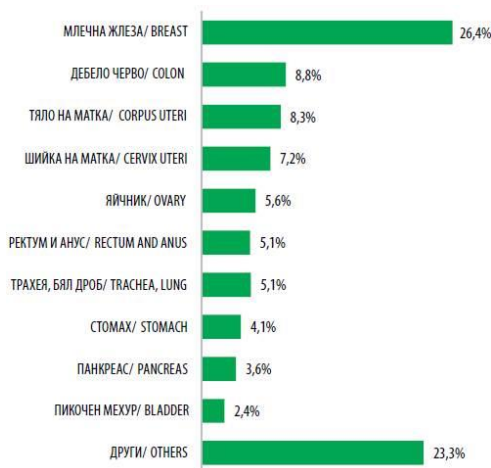
За изпълнението на тази цел се поставят следните задачи:

1. Да се проведе диагностично уточняване на жени с обеситас в I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином – клинично, хистологично, туморни маркери и други биологични показатели.
2. Да се проведе подходяща оперативна интервенция – миниинвазивна/роботизирана или конвенционална при жени с обеситас в I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином.
3. Да се определи и сравни серумното ниво на IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- $\alpha$  цитокини след извършени оперативни интервенции чрез роботизирана и отворена техника на жени с обеситас в I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином.
4. Да се съпостави серумното ниво на IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- $\alpha$  цитокини при двата подхода на оперативна интервенция с постоперативни биологични показатели, продължителност на възстановяване, себестойност на пролежаване и психологически постоперативен комфорт.

## ВЪВЕДЕНИЕ

Ендометриалният карцином е често диагностицирана гинекологична неоплазия в целия свят. Засяга най-често жените между 50 и 70 годишна възраст. При една трета от пациентите заболяването се среща и в по-млада възраст (Валерианова, 2011; Димитрова и др., 2011; National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000).

По данни на Националния раков регистър на България, ракът на маточното тяло заема 8,3 % дял от всички онкологични заболявания при жените и се нарежда на трето място по честота след рака на млечната жлеза и дебелото черво, фигура 1 (Български национален раков регистър. София, 2014).



**Фигура 1.** Процентно разпределение на най-честите злокачествени заболявания при жените в България (Български национален раков регистър. София, 2014).

Злокачествените новообразувания на матката засягат основно ендометриума и зачестяването им все по-често се свързва със отключващи патогенетични механизми, като



ендокринни нарушения, хипокинезия (намалена двигателна активност, затлъстяване, хормонално лечение и други (*National Comprehensive Cancer Network, 2013*).

Затлъстяването е хронично, полиетиологично болестно състояние, резултат от взаимодействието на ендогенни и екзогенни фактори, което се характеризира с прекомерно натрупване на мастна тъкан в организма, дължащо се на увеличение на размерите и/или броя на мастните тъкани. Днес наднорменото тегло и затлъстяването са световен проблем, свързан с изразен коморбилитет и висок процент на смъртност.

България е на шесто място в света по затлъстяване, като жените със затлъстяване са около 35 %, мъжете – 25 %, а децата и юношите между 10 – 12 %. За определяне степента на затлъстяване се използва единен метод, наречен „Body Mass Index (BMI) или Индекс на Телесна Маса“, описан през 1896 г. от Lambert Adolphe Jacques Quetelet. Индексът представлява отношението между телесното тегло в килограми и ръста в метри на квадрат ( $BMI = \text{body mass}/\text{height}^2, \text{kg}/\text{m}^2$ ). Според Световната здравна организация степента на затлъстяване се определя именно от класификацията по индекса на телесна маса (BMI), таблица 1, фигура 2.

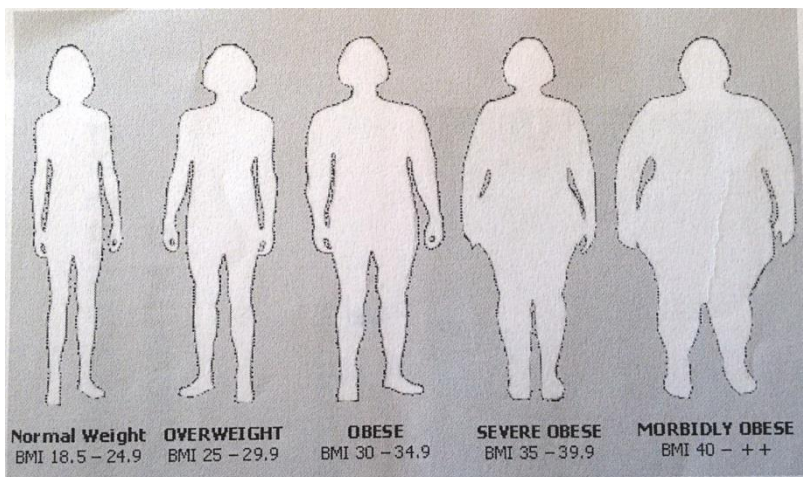
Наднорменото тегло при жените е един от значимите рискови фактори за предиспозиция за ендометриален карцином – 50 % от случаите (*Cust et al, 2007; Dossus et al, 2013; Mathew et al, 2009*). Според мултицентричните проучвания в Европа и САЩ (*Agency for Research on Cancer – IARC, World Cancer Research Fond, American Institute for Cancer Research*), жените с наднормено тегло ( $BMI > 30\text{kg}/\text{m}^2$ ) имат 3 пъти по-висок риск от развитие на ендометриален карцином в сравнение с жените с нормално тегло.

Няколко биологични механизми опосредстват връзката на наднорменото тегло и ендометриалния неопластичен риск

(Cancer Risk). При жените в период на постменопауза наднорменото тегло довежда до конверсия на андрогените, покачване на серумната бионаличност на естрогени, които не са балансирани от прогестерон, което от своя страна засилва митогенната активност на ендометриалните клетки. (Pavelka et al, 2004; Setiawan et al, 2014; Schouten et al, 2006).

Таблица 1. Класификация на затлъстяването според индекса на телесна маса.

Индекс на телесна маса (BMI)	Класификация
< 18.5	под норма
18.5- 24.9	норма
25.0- 29.9	над норма
30.0-34.9	затлъстяване клас I
35.0-39.9	затлъстяване клас II
≥ 40.0	затлъстяване клас III



Фигура 2. Степен на затлъстяване според индекса на телесна маса и неговото отражение върху женското тяло.

При жените в предменопауза, наднорменото тегло се асоциира със синдром на яйчникова поликистоза (засяга 4-8 % от жените) и се характеризира с овариален хиперандрогенизъм, ановулация и прогестеронов дефицит (*Furberg&Thune, 2003; Gaziano, 2010; Kaaks et al, 2005; Kaaks et al, 2002*).

Наднорменото тегло се свързва и с поддържане на продължително високо ниво на възпалителни процеси, покачване на про-възпалителните цитокини и острофазовите възпалителни протеини. Хроничното възпаление подпомага ангиогенезата, клетъчната пролиферация, завишава продукцията на свободни радикали, които от своя страна увреждат клетъчната ДНК, отключват и подпомагат туморния процес (*Guo et al, 2010; Grosen et al, 1992; Hotamisligil, 1994*). Туморите включват в своята маса и имунни клетки и взаимомръзката на про- и анти-имфламаторни цитокини допринася за развитието и прогресирането на неоплазията.

**Цитокини** или Cytokines (от гръцки cyto-, клетка и –kinos, движение/освобождение) са широка и все повече разширяваща се категория от малки протеини (около 5-20 kDa), които изпълняват ролята на клетъчни сигнали – освобождават се от клетки и влияят на „поведението“ на други клетки и върху самите себе си (*Pfeiffer L, 1997; Szczesny TJ, 2007*). Терминът „цитокини“ обхваща голямо и разнообразно семейство на регулаторни молекули, произвежда из цялото тяло от клетки с различен ембрионален произход. Те се секретират от специфични клетки на имунната система и като сигнални молекули, регулират имунитета и възпалението.

Цитокините включват: интерлевкини, лимфокини, интерферони, тумор-некротичен фактор (TNF) и др. Те не са хормони и растежни фактори, но се влияят от техните сигнални молекули. Продуцират се от широк кръг клетки:

макрофаги, В-лимфоцити, Т-лимфоцити, мастоцити, ендотелни клетки, фибробласти, стромални клетки.

Всеки цитокин може да се продуцира от повече от един тип клетки, докато хормоните се произвеждат от специфични клетки и органи.

Цитокините са изключително необходими за имунната система, като чрез специални рецептори модулират равновесието между хормоналния и клетъчно-медиацията имунен отговор, регулират растежа и съзряването на различни клетъчни популации. Някои цитокини потискат или засилват действието на други цитокини в комплексното им взаимодействие (*Smith HO, 2013; Seruga B, 2008*).

Цитокините се класифицират като интерлевкини, лимфокини и хемокини, въз основа на функция, обект на въздействие и клетъчна секреция, както следва:

- **интерлевкини** (Interleukin) - цитокини, които се продуцират преди всичко от Т-хелперни лимфоцити (Th). Интерлевкините са група цитокини, за които първоначално е установено, че се експресират от бели кръвни клетки (левкоцити). Терминът интерлевкин произлиза от (inter-) „като средство за комуникация“, и (-leukin), произтичащо от факта, че много от тези протеини се произвеждат от левкоцити (leukocyte) и действат на левкоцити. Функционирането на имунната система зависи в голяма част на интерлевкините и при някои редки заболявания се наблюдава недостиг на някои от тях, водещо до автоимунни заболявания или имунен дефицит;

- **лимфокини** (Lymphokines) - цитокини, които се продуцират преди всичко от лимфоцити. Те са част от вродения имунитет и играят основна роля при защитата на организма от неопластично трансформирани (туморни) клетки и клетки, заразени с вирус;

- **хемокини** - хемотактични фактори (Chemokines mediate chemoattraction Chemotaxis) - цитокини, които медиат междуклетъчните контакти.

Друга функционална класификация се оказва най-удобна за клинично приложение, като разделя цитокините на три основни типа:

- Тип 1 - цитокини, които повишават клетъчния имуен отговор – TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  и т.н;
- Тип 2 - цитокини, които подобряват антигенния имуен отговор - IL-10, IL-13, IL-4;
- Тип 3 - цитокини с проинфламаторна функция (proinflammatory cytokines), участващи във възпалителни процеси, оксидативен стрес, освобождаване острофазови белтъци, предизвикващи отделянето на други групи цитокини - IL-1, IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ ;

- **Тумор-некротизиращ фактор алфа – TNF- $\alpha$**   
**(*Tumor necrosis factor alfa – TNF- $\alpha$* )**

Този цитокин има централна роля в протичането на възпалителни имунни процеси, клетъчна апоптоза и злокачествени заболявания. Човешкият TNF- $\alpha$  се синтезира като молекула с молекулно тегло 26 kDa или като трансмембранен цитоплазматичен и екстрацелуларен протеин. В продукцията на TNF- $\alpha$  участват различни имунни епителни и туморни клетки. TNF- $\alpha$  се натрупва интрацелуларно, оформяйки нековалентна тримерна връзка, като се експресира върху клетъчната повърхност. Свързаният върху клетъчната повърхност TNF- $\alpha$  може да лизира туморната или вирусно-инфектираната клетка. Отделянето на мембранно-свързания TNF- $\alpha$  довежда до обратна

информация за активиране или забавяне на продукцията както на самия TNF- $\alpha$ , така и на други биологично активни цитокини (*Mathew SJ, 2009; Mizukami Y, 2008*).

- **Интерлевкин 6 – IL-6 (*Interleukin 6 – IL-6*)**

Гликозилиран цитокин, който играе значима роля в острата фаза на възпалението, кръвотворенето, костния метаболизъм и в еволюцията на злокачествените процеси. Известно е, че клетките, които експресират IL-6, включват: CD8+ Т-клетки, В1 (В) – клетки, фибробласти, мастни клетки, остеобласти, мегакариоцити, ендотелни клетки, симпатикови неврони, клетки от надбъбречната медула, неутрофили, моноцити, еозинофили, епителни,  $\beta$ -клетки на панкреаса и др. IL-6 продукцията корелира с клетъчната активация и се влияе от нивото на глюкокортикоидите, катехоламините, половите хормони. Нормалното ниво на IL-6 в циркулацията е 1 pg/ml и се завишава значимо при оперативна интервенция и неоплазия. Чрез хетеродимерни сигнални рецептори IL-6 (R) влияе върху IL-11, IL-27, LIF. Разтворимите му форми активират протеолитични ензими и потискат функцията на хепатоцитите, моноцитите и лимфоцитите.

IL-6, съвместно с TNF- $\alpha$  и IL-1, участва в острия и хроничен възпалителен процес. Той е отговорен за фебрилитета, септичните състояния, а също така за инсулиновата резистентност, затлъстяването, възпалителните процеси на гастро-интестиналния тракт и карциногенезата. Моментите на дисрегулаторна функция винаги са свързвани с участието на IL-6 - транс-сигнали.

IL-6 има и антивъзпалителен (антиимфламаторен) ефект. Действа на скелетната мускулатура, подпомага хемопоезата чрез активиране на растежни фактори (Growth Factors), ориентирани към родоначални клетки (Stem cells), съзряване

на В-лимфоцитите и плазматичните клетки (*Plante M, 2008; Perrier S, 2006; Moradi MM, 1993*).

- **Интерлевкин 8 – IL-8 (*Interleukin 8 – CXCL8*)**

Цитокин, синтезиран от 99 аминокиселини, които циркулира в мономерна, хомодимерна и хетеродимерна форма (CXL4/PF4). Широк кръг от клетки секретират IL-8: моноцити, неутрофили, фибробласти, кератиноцити, мастоцити, гладкомускулни, авеоларни и ендотелни клетки. IL-8 циркулира 15-18% в прекурсорна форма и предизвиква левкоцитоза. Чрез трите форми IL-8 влияе върху движението на левкоцити и макрофаги, като подпомага антимикробната активност. Някои проучвания доказват ангиогенезния ефект на IL-8 върху тимус-асоциираните ендотелни клетки и отговорността му за пролиферацията и клетъчната преживяемост (*Mantovani G, 2000; Munster B, 2008; Nash M, 1999*).

- **Интерлевкин 10 – IL-10 (*Interleukin 10 – IL-10*)**

Този цитокин е познат в литературата като цитокин-синтезис инхибиторен фактор (CSIF). Към IL-10 фамилията се включват спираловидно IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26. IL-10 се секретира от активирани хемopoетични чернодробни клетки, кератиноцити, плацентарни цитотрофобласти и др. Биологичната му активност е свързана с хетеродимерни рецептори, които дават началото на „сигнална каскада“ на взаимодействие върху лимфоцити, НК-клетки, макрофаги, моноцити, чревни епителни клетки, астроцити и др. Имуномодулаторният му ефект включва:

- „позитивен ефект“, който се опостредства от Th2-хелперни лимфоцити, които „подпомагат“ фагоцитозата и антигенното представяне;

- „негативен ефект“, който се опостредства от Th1-хелперни лимфоцити, които „потискат“ антигенната презентация и проимфламаторния отговор.

Нивото на IL-10 се повишава в серума, перитонеалната течност и слюнката при злокачествени заболявания, вирусни инфекции и напреднали аутоимунни процеси (*Moore KW, 1993; Mumm JB, 2011; Mustea A, 2006, Ouyang W, 2011*).

Възпалителният процес е съпроводен със завишени стойности на С-реактивен протеин (CRP) – произведен от чернодробните клетки в отговор на клетъчното увреждане и възпаление. CRP се свързва с увредените клетки и клетъчни компоненти, активирайки фагоцитозата и макрофагите - т. нар. Macrophages and Leukocytes Clearance (*Michaud et al, 2012; Mizukami et al, 2008; Modugno et al, 2005*).

Най-големият стимул за синтез на CRP е интерлевкин 6 (IL-6), който е отговорен също за участието на мононуклеарните клетки в острия възпалителен процес и неговото хронифициране (*Nair et al, 2013; Nash et al, 1999*).

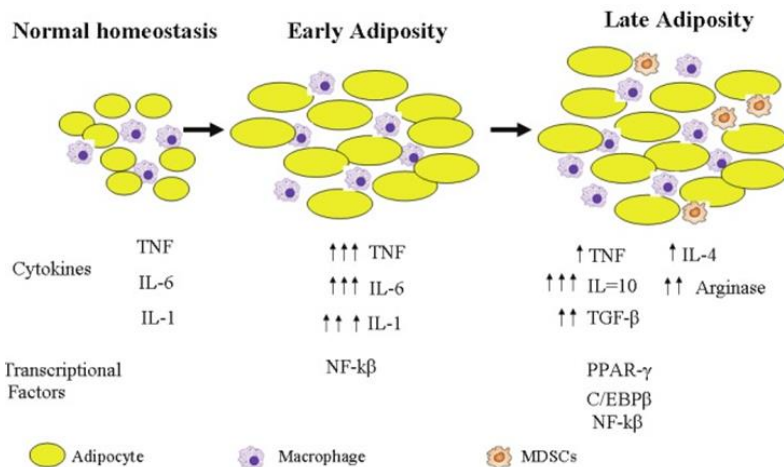
Цитокиният профил може да подпомогне терапията и прогностичната оценка, а промените след оперативната интервенция да забавят възстановителния процес. Продължителното въздействие на проимфламаторни цитокини се асоциира с характерната отпадналост, депресия, психични промени, които влияят допълнително върху началните болестни промени и се увеличават от тежките оперативни интервенции.

В последното десетилетие ролята на имunosупресията и факторите, подпомагащи канцерогенезата извън тумора, заемат голям дял от терапевтичните очаквания и възможности. Засилването на клетъчната апоптоза от тумор-специфичните CD8-T-супресорни клетки, както и продукцията на различни цитокини и ангиогенетични фактори, подпомагат



първичния тумор и допринасят за последващи метастази (Lu, 2011; Murdoch et al, 2008).

Изясняването на значението в детайли на тези фактори и установяването на тяхната взаимовръзка, може да повиши профилактичните възможности за по-добър клиничен изход и преживяемост. Главната зависимост между наднормено тегло и неопластичния риск е силно изразена и подкрепена от ред биологични механизми, фигура 3, (Allen NE, 2008; Chen B, 2011; Chin J, 2009; Cibelli M, 2014).



**Фигура 3.** Затлъстяване и канцерогенеза: роля на цитокини, макрофаги, хроничен възпалителен процес (Am J Cancer Res 2013; 3(1) 21-33, ISSN:2156-6976, Derick Okwan-Duodu, Guillermo e Umpierrez, Otis W Brawley, Roberto Diaz “obesity-driven inflammation and cancer risk: role of myeloid derived suppressor cells and alternately activated macrophages”).

Тревожен е фактът, че затлъстяването при деца, подрастващи и възрастни драматично се покачва през последното десетилетие (Chen B, 2011; Finucane M, 2011; Flegal K, 2010, Hosono S, 2012).

Световната здравна организация (WHO) оценява общо, че през 2015 година, от 2.3 билиона възрастни, повече от 700 милиона са с наднормено тегло. Тези данни превръщат наднорменото тегло в пандемия и го поставят на преден план в глобалните здравни проблеми, свързани със: сърдечно-съдови заболявания, диабет, хипертония, чернодробни проблеми, а също така и канцерогенен риск (ендометриален, гастро-интестинален и др).

Наднорменото тегло е свързано с ред фактори, чрез които може да се въздейства и профилактира ендометриалната канцерогенеза: генетични, хранителен режим, двигателна активност, адаптивна термогенеза, противовъзпалителна терапия, хормонален профил, чести гинекологични консултации и др.

Основните фактори, засилващи или намаляващи ендометриалния канцерогенен риск (ЕМКР), са обобщени на фигура 4. Внимателното наблюдение на тези фактори и ранното откриване повишава шансовете за правилна диагностика и лечение.

Основните терапии на ендометриалния карцином са хирургична, лъчева, хормонална и химиотерапия. В определени ситуации и показания е необходима комбинация от терапевтични методи. Успехът на лечението зависи до голяма степен от стадия при диагностициране на заболяването (*Walker J et al 2009*).



**Фигура 4.** Фактори за ендометриален канцерогенен риск.

Други фактори, които играят роля за успеха на лечението, са: възраст, придружаващи заболявания, хистологичен тип, големина на туморното образуване, ангажиране на лимфни възли, далечно разпространение, биохимични отклонения, туморни маркери, характерни за заболяването, ниво на цитокини и други имунологични отклонения. (*Velijovich DS et al, 2008*).

За оперативното лечение на ендометриалния карцином, отворената радикална хистеректомия с тазова лимфна дисекция е „златен” стандарт от около 100 години. Този стандарт е претърпял малко модификации, откакто е описан за първи път от *Wertheim (Wertheim E, 1912)* и по-късно от *Meigs (Meigs J., 1945)*.

Лапароскопската радикална хистеректомия и дисекция на лимфни възли са приложени през 1990 година. *Zakashansky (Zakashansky, 2008)*, анализира 1000 случая на лапароскопска хистеректомия със сравнителни проучвания с конвенционална оперативна техника – оперативен достъп, оперативно време, кръвозагуба, възстановителен период.

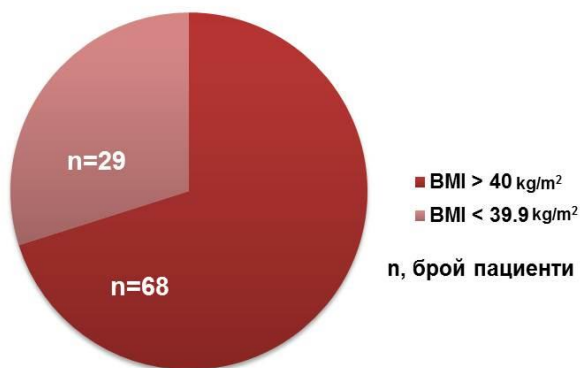
През последните десет години с развитието на лапароскопската и роботизираната техника, както и

използването на имунохистохимични методи за доказване на микрометастази в лимфните възли, разположени на т.н. „стратегическо място“, се създава възможност за индивидуален подход при лечението на онкологичните заболявания, в това число и туморите на женската полова система. Единствената цел е намаляване на следоперативните усложнения и смъртността (Г. Горчев, „Лимфна дисекция при гинекологични тумори“ стр. 441-452 в книгата „Лимфна дисекция“, изд. ИК „Фотон и ИЯ“ ООД, ISBN – 978 -954 -756 – 071-0).

Въпреки предимствата на робот-асистираните хистеректомии и използването на максималните технологични възможности на Da Vinci, от изключително значение е нивото на хирурга, като обучение и практика.

## **МАТЕРИАЛ**

За реализирането на поставените цел и задачи, са изследвани 97 жени с I<sup>ви</sup> стадий на ендометриален карцином, диагностично уточнени – клинично и хистологично. На всички пациентки е проведена оперативна интервенция в Онкогинекологична клиника към УМБАЛ „Георги Странски“, гр. Плевен, в периода от 2013г. до 2015г. (3 години). Възрастовият диапазон, включена в проучването, е между 39 и 81 години. Пациентките са разпределени по индекс на телесна маса (BMI), както е представено на фигура 5.



**Фигура 5.** Разпределение на броя на пациентките според BMI.

От тях 62 пациентки са оперирани чрез роботизирана хирургия, а 35 - чрез конвенционална хирургия, фигура 6. Критерият за избор на хирургичен метод е съобразен с индивидуалните клинични характеристики на пациентите. В България, все още не е създаден държавен стандарт спрямо икономическите показатели при двата хирургически метода.



**Фигура 6.** Разпределение на пациентките, оперирани чрез роботизирана хирургия и чрез конвенционална хирургия.

## МЕТОДИ

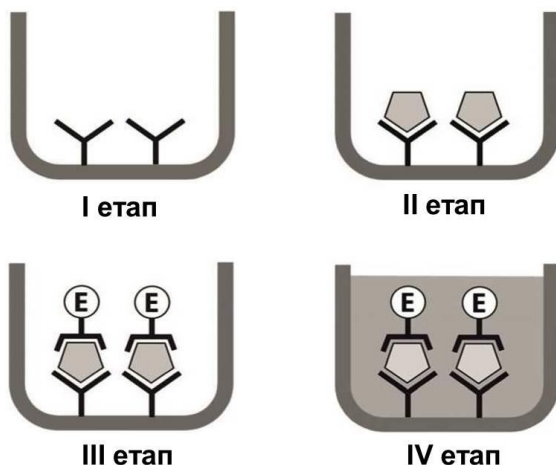
### Оперативни техники

За реализирането на поставените цел и задачи, са избрани и съпоставени две оперативни техники: конвенционална отворена хирургия и миниинвазивна роботизирана хирургия. При миниинвазивната хирургия е използвана роботизирана система “Da Vinci S” с инструментариум на INTUITIVE SURGICAL® и нула градусова оптика. Всички филми са съхранени чрез архивираща система на KARL STORZ – ENDOSKOPIE® - AIDA-compact и обработени след приключване на оперативните интервенции.

### Определяне на имунологични параметри IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$

Имунологичните параметри IL-6, IL-8, IL-10, TNF са изследвани с Human ELISA тестове на Diaclone, съгласно методичните указания. ELISA – Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay – е високочувствителен и възпроизводим тест за определяне на биологични субстрати с ниска концентрация, базираща се на реакция Антиген  $\leftrightarrow$  Антитяло известна като “double antibody sandwich”. Реакцията протича в четири етапа, съответно: **I етап** – полистиренови гнезда, покрити с античовешки L-6, IL-8, IL-10, TNF моноклонални антитела; **II етап** - добавяне на изследвания биологичен материал (100 $\mu$ l серум) и съответните стандарти за IL-6, IL-8, IL-10, TNF; **III етап** - инкубиране с анти-цитоклинови антитела, белязани с ензим (E – streptavidin peroxhydase conjugate); **IV етап** - добавяне на субстрат за визуализиране на антиген-антитяло реакция и измерване на оптичната плътност (на 450 nm). Етапите са схематично представени на фигура 7. Пробите са отчетени

при оптична плътност 450 нанометра от ELISA Reader, модел Stat Fax 2100, произведен от Awareness Technology Inc.



**Фигура 7.** Схематична илюстрация на ELISA изследване за цитокини IL6, IL8, IL10, TNF.

Кръвните проби са вземани на третия час след оперативна интервенция, отделян серум и съхраняван при  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ . Провеждано е динамично проследяване на изброените параметри – преди оперативна интервенция, на 3<sup>-тия</sup> час и на 3<sup>-тия</sup> ден при 5 от жените със сходна възраст и BMI индекс, оперирани с роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативна техника. Направени са изследвания на серумните нива на IL-6, IL-8, IL-10, TNF на 15 клинично здрави жени на възраст от 45г до 67г, които са използвани като контролна група.

Тестовите на имунологичните параметри са проведени в МДЛ „ИМУНОДИАГНОСТИКА П.П.“ с ръководител Доц. Д-р Петрунка Петрова, <http://www.umbalpleven.com/imunulogia>.

## Статистически методи

Данните са представени в таблици и графики. Амплитудите на данните са сравнени чрез параметрични тестове за проверка на хипотези при две независими извадки – Student t-test, и еднофакторен ANOVA post hoc LSD тест за сравняване на групи данни. Данните са представени като средни стойности и стандартна грешка ( $m \pm SEM$ ); статистическа значима разлика между групите се приема при  $p < 0.05$ . Статистическата обработка на данните е извършена с компютърна програма STATGRAPHICS Plus 4.1 for Windows (Statistical Package for the Social Sciences) и Exel (Office 2007).



## РЕЗУЛТАТИ

### РЕЗУЛТАТИ ПО ПЪРВА ЗАДАЧА

*Проведено е диагностично уточняване на жени с обезитас в I<sup>ви</sup> стадий на ендометриален карцином – клинично, хистологично, туморни маркери и други биологични показатели.*

С развитието на техниката и по-специално с усъвършенстването на образната диагностика, (ехография, компютърноаксиална томография, ядреномагнитен резонанс и др.) се дава по-пълна представа за развитието и диагнозата на рака на ендометриума. „Златното правило“ е комплексния подход, защото окончателната диагноза е хистологичната, и то върху оперативните материали. Затова минималната информация, която трябва да придружава изпратения за изследване материал, следва да съдържа следните данни: възраст на пациентката, последна редовна менструация. При жените в климактериум е важно да се отбележи и характера на предходния менструален период (нередовна менструация), неправилно кървене и др. От особено значение е да се отбележи изрично прилагани ли са или не хормонални препарати, какъв тип и в какви дози. Хистологичното изследване най-често се явява като допълнение на една образна техника (Г. Горчев и Е. Маринов, 1999 Монография „Пред рак и рак на ендометриума“, РА „Неда“ ООД, ISBN 954 – 8600 – 04 – 8).

За целите на провежданото изследване са избрани пациентки диагностицирани в I<sup>ви</sup> стадий на ендометриален карцином в периода 2013-2015 г. Предоперативно пациентките са обработени със следните методи:

1. Анамнеза;
2. Гинекологичен преглед;
3. Лабораторни показатели (пълна кръвна картина, имунологични параметри, биохимичен анализ, хемостазни показатели и др.);
4. Ехография на малък таз;
5. Консултация с интернист;
6. Консултация с анестезиолог и определяне на предоперативния риск по ASA (American Society of Anesthesiologists);
7. Специализирани консултации – кардиолог, ендокринолог и др. (по индикации);
8. Хистероскопия;
9. Други образни методи за изследване - ехография на коремни органи, рентгеново изследване на бял дроб, компютърна томография и/или ядрено-магнитен резонанс, позитронно-емисионна томография (PETscan).

В специално създадената за проучването анкетна карта, фигура 8, се посочват: имена на пациентката, възраст, тегло, ръст, индекс на телесната маса (BMI), имунологични показатели (CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF - $\alpha$ )- определени преди, след третия час и след третия ден от извършената операция, оперативно време, TNM-класификация, интраоперативна загуба, съпътстващи заболявания, големина на матката, болничен престой и усложнения.

След диагностиката, получената предоперативна информация, води до акцентирание на вниманието на

хирурзите, и анестезиолозите за избор на оперативна интервенция, анестезиологичен и оперативен риск; следоперативни грижи; възможни усложнения и тяхното предотвратяване. Успехът на лечението, несъмнено, зависи до голяма степен от стадия при диагностициране на заболяването.

**АНКЕТНА КАРТА**

1. Име		год.	ИЗ№
2. Дг:		Ор:	
3. Тегло:		Ръст:	BMI:
Телесна повърхност :		Степен на затлъстяване:	
<b>4. Показател</b>	<b>Час</b>	<b>дата</b>	
4.1. CRP			
4.2. IL6			
4.3. IL8			
4.4. IL10			
4.5. TNF			
5. Оперативно време:			
6. TNM-класификация:			
7. Интраоперативна кръвозагуба:			
8. Съпътстващи заболявания:			
9. Големина на матката:		g	
10. Болничен престой:			
11. Усложнения:			

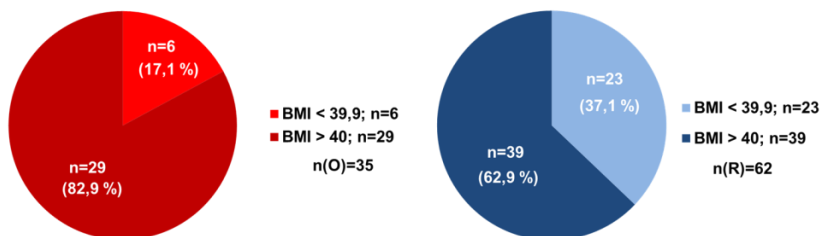
**Фигура 8.** Пациентска анкетна карта.

## РЕЗУЛТАТИ ПО ВТОРА ЗАДАЧА

Проведена е подходящата оперативна интервенция – миниинвазивна/роботизирана или конвенционална при жени с обезитас в I<sup>BU</sup> стадий на ендометриален карцином.

Пациентките са разделени на две групи, съобразно индивидуалните диагностични характеристики и установения индекс на телесна маса (BMI), за провеждане на подходяща оперативна интервенция, фигура 9.

Първата група се състои от 35 жени, оперирани с конвенционална оперативна техника. От тях 82,9 % са с индекс на телесна маса, по-голям от 40 kg/m<sup>2</sup> и 17,1 % с индекс на телесна маса, по-малък от 39,9 kg/m<sup>2</sup>. Втората група е тази на жените (62), оперирани с роботизирана техника. От тях 62,9 % са с индекс на телесна маса, по-голям от 40 kg/m<sup>2</sup> и 37,1 % с индекс на телесна маса, по-малък от 39,9 kg/m<sup>2</sup>.



**Фигура 9.** Индекс на телесна маса (BMI) при жени в I<sup>BU</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани с конвенционална (O, n = 35)-ляво и роботизирана (R, n=36) оперативни техники – дясно.

Избраните пациентки се характеризират с наднормено тегло в различни степени на затлъстяване, което води до редица затруднения при извършване на оперативните намеси (Sert BM, Abeler VM. 2006, 531-3).

Експерименталните и клиничните проучвания показват, че хирургичната травма води до промяна в имунологичния отговор, който прогресира в производството на проинфламаторни цитокини, потискане на клетъчно-медирания имунитет и промяна в програмираната клетъчна смърт, т. нар. „апоптоза” (*Nam EJ, 2010; Sonnenberg GF, 2011; Velijovich DS, 2008; Naik R, 2010; Vermeij R, 2011*).

Цитокините са едни от първите медиатори на възпалителните, неопластични и други болестни процеси, стресови реакции и оперативна травма, затова те могат да бъдат използвани като независими прогностични фактори (*Chopra V, 1997; Liu P, 2013; Lemstra AW 2008, Plasche K, 2010*).

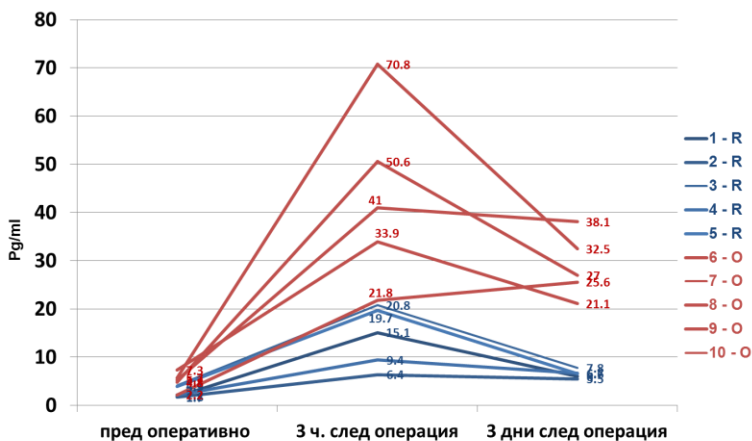
## РЕЗУЛТАТИ ПО ТРЕТА ЗАДАЧА

*Определихме и сравнихме серумното ниво на IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- $\alpha$  цитокини след извършени оперативни интервенции, чрез роботизирана и отворена техники на жени с обездитас в I<sup>su</sup> стадий на ендометриален карцином.*

Сравнителните характеристики на динамичното проследяване на серумното ниво на IL-6 на оперирани пациентки, с роботизирана и отворена хирургични интервенции, са представени на фигура 10.

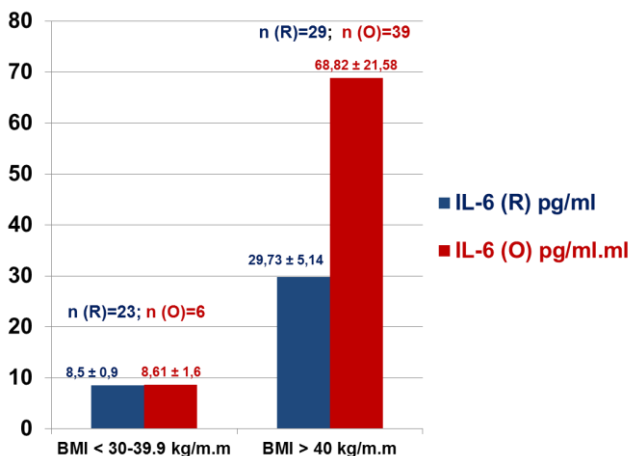
Наблюдава се завишаване на нивата, отчетени след третия час. IL-6 е плейотропичен (pleiotropic) цитокин, който дава информация за силата на острофазовата реакция на възпалението, тежестта на оперативната травма, очаквани усложнения и неопластична прогресия. Този интерлевкин действа на туморните плазмени клетки. Прави впечатление, че нивата на IL-6 при пациентките, оперирани с конвенционална хирургия са с до 10 пъти по-високи от тези, получени при оперираните с роботизиран метод. Нещо повече, серумните нива остават по-високи и след третия ден от проведената отворена хирургична интервенция, за разлика от понижените стойности, отчетени след миниинвазивния подход.

Съпоставяне на серумно ниво на IL-6 цитокини при двата подхода на оперативна интервенция спрямо индекса на телесна маса (BMI) на оперираните жени, е представено на фигура 11. Видима е значима разлика в цитокиновото ниво на IL-6 при оперираните групи пациенти с индекс на телесна маса  $BMI \leq 39.9 \text{ kg/m}^2$  (ляво) и  $BMI > 40 \text{ kg/m}^2$  (дясно). Отклоненията отново са най-значими при жени с  $BMI > 40 \text{ kg/m}^2$ , оперирани с конвенционална техника.



**Фигура**

10. Отчетени стойности на серумното ниво на IL-6 при жени с I<sup>-ВІ</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани с роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.



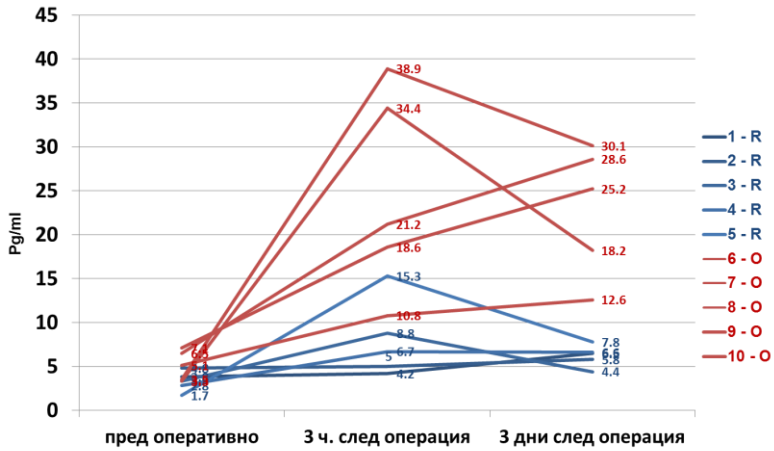
**Фигура 11.** Съотношение между индекс на телесна маса (BMI) и измерени нива на IL-6 през трети час след оперативния период, при жени в I<sup>-ВІ</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани с роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

Специално внимание изисква и проследяването на цитокиновия профил на интерлевкин IL-10 (цитокин-синтезис инхибиторен фактор), който се свързва с антигенния имунен отговор на организма. В този случай IL-6 играе ролята на „пусков“ фактор за IL-10. “Включването” на IL-10 в имунната регулация е с двоен ефект. От една страна, той подпомага фагоцитарната активност и Т2-хелперни лимфоцити, а от друга потиска проинфламаторния отговор и функцията на Т1-хелперните лимфоцити. Въпреки индивидуалните отклонения в цитокиновото ниво, резултатите, получени при проследяване профила на IL-10, следват предходната тенденция, фигура 12.

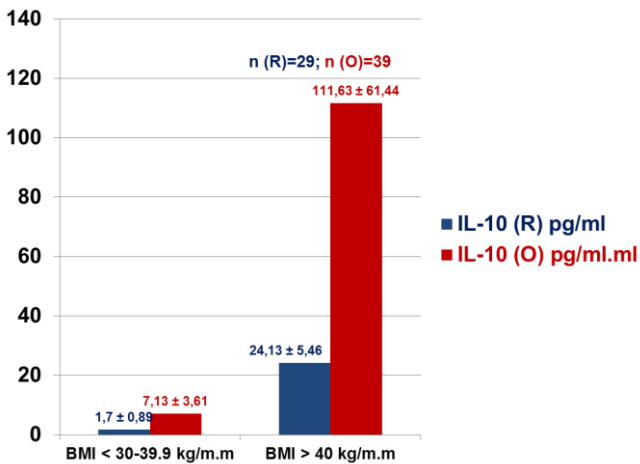
Цитокиновото ниво е завишено на третия час след проведените интервенции, като за пациентките, оперирани с метода на отворена хирургия, нивото остава високо дори след третия ден от интервенцията. По-бързото доближаване до изходните цитокинни нива се наблюдава само при жени, оперирани с роботизиран метод. Установеният профил корелира с представеното съотношение между индекса на телесна маса (BMI) на пациентките и измерените нива на IL-10 при двата вида проведени интервенции, фигура 13.

Завишаването на IL-6 и другите цитокини, води до повишаване на С – реактивния протеин (CRP), който се синтезира в черния дроб в отговор на възпалителни, инфекциозни, неопластични, травматични и автоимунни процеси и се използва като апоптопичен и некротичен маркер. Този протеин е пентамерен гликопротеин, известен като „острофазов протеин“ и нормалната му стойност в кръвна плазма е < 10 mg/l. Той се свързва с липофосфотидилхолина на клетъчните мембрани, с по-нататъшно активиране на комплементната каскада, фагоцитоза, синтез на фибриноген и затваряне на патогенетичния кръг с поддържане на възпалителния процес.



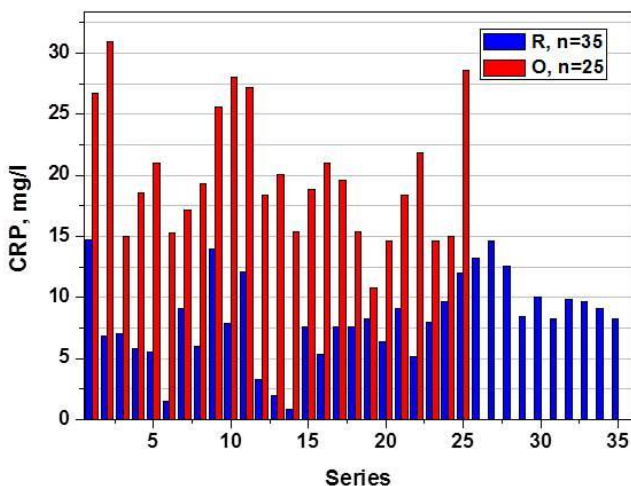


**Фигура 12.** Отчетени стойности на серумното ниво на IL-10 при жени с I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.



**Фигура 13.** Съотношение между индекс на телесна маса (BMI) и измерени нива на IL-10 през трети час след оперативния период, при жени в I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

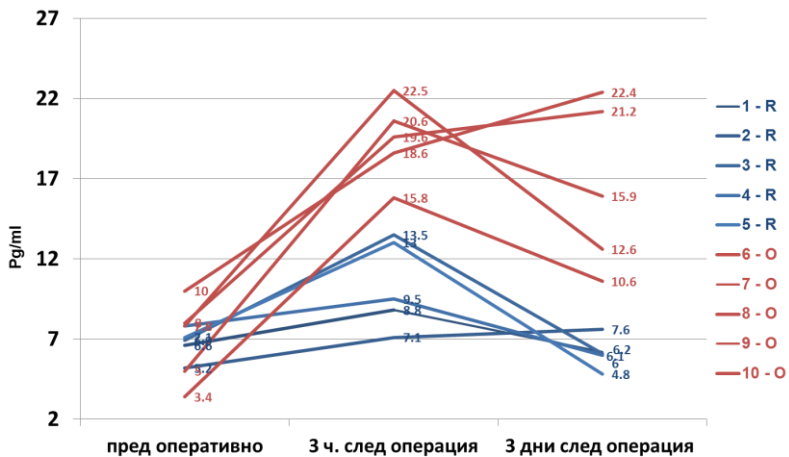
Интерес представлява изследването на нивото на CRP след третия час на оперираните пациентки. От направеното сравнително изследване, фигура 14, на този протеин при пациентките оперирани чрез двата метода, се наблюдава, че средните стойности, измерени след приложена роботизирана техника ( $\Delta$  CRP = 7.906 mg/l), са в границите на нормата (< 10 mg/l).



**Фигура 14.** Ниво на CRP при жени с I<sup>ВМ</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез микроинвазивна (R) и конвенционална (O) оперативна техника на 3-тия час ( R n=35; O n=25)

Значително завишени са стойностите, измерени за пациентките, оперирани чрез отворена хирургия ( $\Delta$  CRP = 19.886 mg/l), което свидетелства за поддържане на възпалителен процес, фигура 14. Този резултат потвърждава предимството на роботизираната хирургия пред конвенционалната.

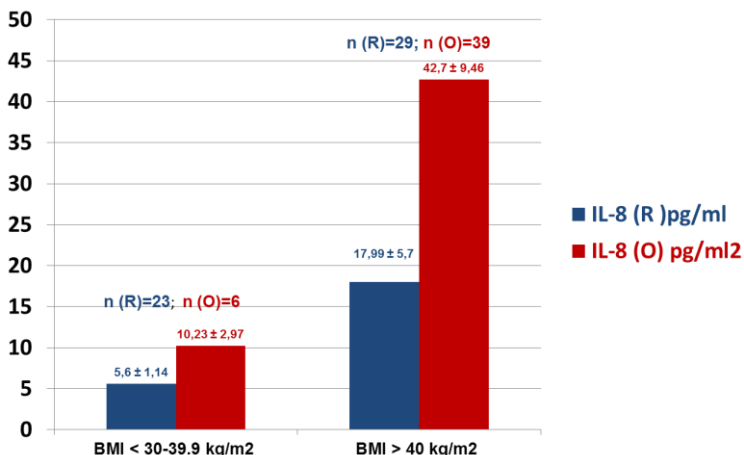
За степента на възпалителното състояние на организма отговаря и нивото на проинфламаторния цитокин IL-8. Интерлевкин IL-8 влияе върху движението на левкоцити и макрофаги (хемотаксис, миграция, респираторен взрив), като спомага антимикробната активност. Също така се свързва с ангиогенезния ефект върху тимо-асоциираните ендотелни клетки и отговаря за клетъчната преживяемост. Фигури 15 и 16 представят резултатите от получения профил на цитокиновото ниво на интерлевкин IL-8.



**Фигура 15.** Проследяване нивото на IL-8 при жени с I<sup>В</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

От направеното изследване се установява, че измерените нива на IL-8, след третия час са много по-ниски от тези на IL-6 и IL-10 при пациентките оперирани чрез отворена хирургия. Запазва се тенденцията за повишените нива на цитокиновите профили след извършена конвенционална интервенция. Повишеното ниво на IL-6 и IL-10, но не и на IL-8, е независим

прогностичен фактор за по-кратката преживяемост без прогресиране.



**Фигура 16.** Ниво на IL-8 и BMI в следоперативния период (3<sup>-ти</sup> час) при жени в I<sup>-ви</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

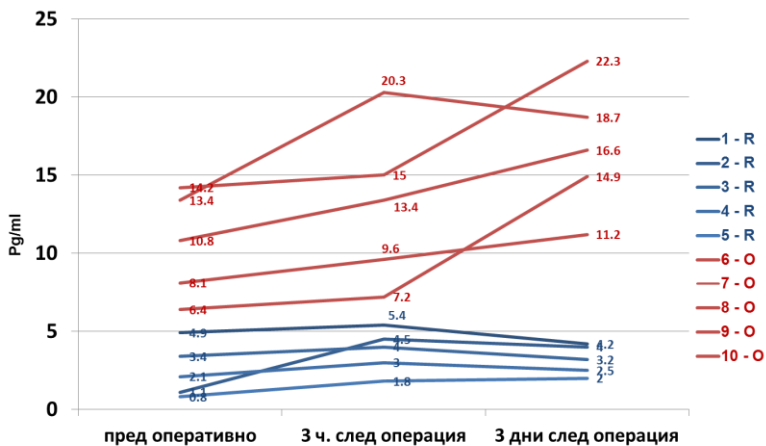
Човешкият протеин TNF- $\alpha$  (*тумор-некротичен фактор*, *TNF*) има централна роля в протичането на възпалителни имунни процеси, клетъчна апоптоза и злокачествени заболявания. TNF- $\alpha$  и интерлевкини IL-6, съвместно с и IL-1, участват в острия и хроничен възпалителен процес. Отговорени са за фебрилитета, септичните състояния, а също така за инсулиновата резистентност, затлъстяването, възпалителни процеси на гастро-интестиналния тракт и карциногенеза.

С активирането на TNF- $\alpha$  се активират или потискат редица възпалителни процеси, съдова пропускливост, хеморагични и некротични отклонения, туморно-асоциирана

васкуларизация, противотуморно лечение и по-нататъшно разпространение на неопластичния процес.

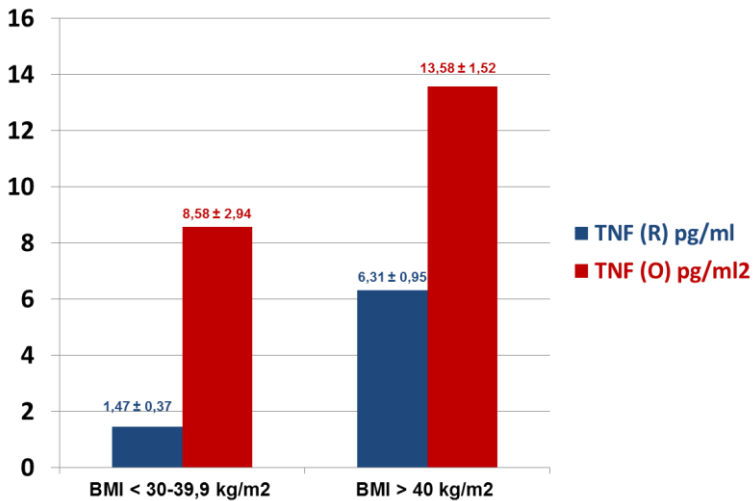
С оглед на мултифакторното значение на TNF- $\alpha$ , е изследвано динамично серумното ниво на TNF- $\alpha$  при жени с рискови фактори – неоплазия, затлъстяване, кардио-васкуларни и ендокринни нарушения. Проследено е нивото на TNF- $\alpha$ , който в случая играе роля на резултантна от комплексната цитокинова промяна в нивата на разгледаните IL-6, IL-8, IL-10 – предоперативно, след третия час, и на третия ден при пациенти със сходна възраст, оперирани чрез роботизирана и отворена техники.

Установено е, че предоперативно и на 3-тия час след операцията, измерените нива на TNF- $\alpha$  при пациентките, оперирани с роботизирана техника, показват по-малки отклонения в сравнение с групата, оперирана с отворена техника, фигура 17.



**Фигура 17.** Проследяване нивото на TNF- $\alpha$  при жени с I<sup>В</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

При първите, дори се наблюдава понижаване на нивата на TNF- $\alpha$  почти до изходни стойности след третия ден от операцията, фигура 18. Докато групата, оперирана с отворена техника, е с много по-големи отклонения като изходни серумни нива, значимо завишаване на 3-тия час и без връщане на изходните нива на 3-тия ден на оперативната интервенция. Освен това, при три от жените, оперирани с отворена техника, TNF- $\alpha$  продължи да се покачва на 3-тия ден след интервенция. Същите бяха и с клинично доказани следоперативно усложнения - инфекция, дехисценция, чревна непроходимост.



**Фигура 18.** Ниво на TNF и BMI в следоперативния период (3-ти час) при жени в I-ви стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

На основата на клиничното ни наблюдение и на серумното ниво на TNF- $\alpha$  и IL-6 можем да обобщим, че предоперативните и следоперативни изследвания на

серумното им ниво са „икономична” оценка за големина на „оперативната травма”, очаквани постоперативни усложнения – хеморагии, инфекции, неопластична прогресия, както и приложение на противотуморни медикаменти. По такъв начин TNF- $\alpha$  се превръща в ключов фактор за големина на клетъчно увреждане и лечебна перспектива.

Направеното проучване визира имунопатологичните промени при I<sup>вн</sup> стадий на ендометриален карцином, когато тези промени са много по-малки в сравнение с напредналите стадии на заболяването. Тези наблюдения отварят възможността за базова комплекса оценка на имунологичните индивидуални отклонения и високите технологични възможности на оперативната хирургия.

## РЕЗУЛТАТИ ПО ЧЕТВЪРТА ЗАДАЧА

Съпоставено е серумното ниво на IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- $\alpha$  цитокини при двата подхода на оперативна интервенция с постоперативни биологични показатели, продължителност на възстановяване, себестойност на пролежаване и психологически постоперативен комфорт.

От проведената следоперативна хистологична диагноза, се наблюдава преобладаването на endometroid-хистологичен тип при 67 % от оперираните чрез роботизирана (R) и 57,1%, чрез отворена (O) хирургии. Следващите по честота са светлоклетъчен карцином, т.н. „clear cell“ съответно 19,3% за R и 22,8% за O – таблица 2.

Таблица 2. Хистологична характеристика на жени с I<sup>вн</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

Хистологична диагноза	R n=62	%	O n=35	%
Endometroid	42	67,4	20	57,1
Clear cell	12	19,3	8	28,8
Serous	4	6,4	2	10,0
Mucinous	2	3,2	2	10,0

Подобни наблюдения имат автори като Hauspy (*Hauspy J, 2010; Walker JL, 2009; Gaziano JM, 2010; Flegal KM, 2010 Canadian Cancer Society, 2010*), а други като Chin (*Chin J, 2011; Bernardini MQ, 2012; Calee EE, 2003; Burke W, 2014; Chen BB, 2011; American Cancer Society*), обсъждат широкото разпространение на високите степени на наднормено тегло – около 75 % от възрастните жени в Европа и Америка и свързането му с хормонални метаболитни нарушения и



неопластичен риск, което корелира и с нашите резултати, показани в таблица 3.

Таблица 3. Рискови фактори по време на оперативния и следоперативен период при жени с I<sup>-вн</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

Рискови фактори	R, n=62		O, n=35	
	брой	%	брой	%
Години >55	53	85,4	28	80,0
Диабет	20	32,5	11	30,1
Хипертония	12	19,3	8	22,8
Исхемична болест на сърцето	10	16,1	10	28,0
Мозъчна исхемия	11	17,7	9	25,2
BMI >30	39	62,9	29	82,8
Други ендокринопатии	8	12,9	10	28,5
Варици	12	19,3	6	17,1
Бъбречно увреждане	10	16,1	6	17,1
Язвена болест	5	8,0	3	14,2
Астма	5	8,0	4	14,2

Посочените данни от таблица 3 показват по-голям брой придружаващи заболявания – диабет, хипертония, исхемични сърдечни и неврологични нарушения, ендокринни и гастритни заболявания при жени с ендометриален карцином.

Това води до акцентиране на вниманието на хирурзи и анестезиолози за избор на оперативна интервенция, анестезиологичен и оперативен риск; следоперативни грижи; възможни усложнения и тяхното предотвратяване (*Cibelli M,*

2014; Diaz JP, 2008; Dossus L, 2013; Estape R, 2009; Fader AN, 2009; Flegal KM, 2010; Flavin R, 2010).

Минимално-инвазивната хирургия показва намален острофазов отговор в сравнение с отворените процедури и по-добро съхранение на клетъчните имунни механизми. На лице е по-малка кръвозагуба при роботизираните операции на ендометриален карцином, в сравнение с отворените оперативни интервенции, таблица 4.

Таблица 4. Следоперативна характеристика при жени с ендометриален карцином I<sup>BI</sup> стадий, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

Параметри	R n=62	O n=35	P
Големина на матка SD/g	101,45 ± 24,96	121,48 ± 31,00	P<0,001
Кръвозагуба SD/ml	96,93 ± 26,86	435,71 ± 108,85	P<0,001
Оперативно време SD/min	95,96 ± 29,76	139,85 ± 30,13	P<0,001
Болничен престой SD/d	3,37 ± 0,27	10,8 ± 0,26	P<0,001

Съпоставянето на високите технологични оперативни възможности – микроинвазивна оперативна хирургия с имунологичните промени на цитокиново ниво при I<sup>BI</sup> стадий на ендометриален карцином представя възможността и надеждата за все по-успешно лечение на това неопластично заболяване, и възможността за неговата профилактика.

Изследванията потвърждават становището, че миниинвазивната хирургия намалява така наречения

„цитокинов взрив”, което редуцира следоперативния риск и дните на реанимационни грижи и хоспитализации. Това е от изключително значение при пациенти с наднормено тегло, тъй като при тях е възможна нова ангиогенеза и разпространение на неопластичния процес. На Таблица 5 са представени средните стойности на цитокини IL-6, 8, 10, TNF- $\alpha$  на 3-тия час след миниинвазивна (R) и конвенционална (O) оперативна техника в сравнение с контролна група от 15 клинично здрави лица.

Таблица 5. Ниво на цитокини в следоперативния период (след 3<sup>-ти</sup> час) при жени в I<sup>-ви</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана (R) и конвенционална (O) оперативни техники.

Цитокини pg/ml	Здрави пациенти	R, n=62	O, n=35	P
IL-6	2,79 $\pm$ 0,93 (0,7 – 5,5)	20,65 $\pm$ 4,25 (0,9 – 9,5)	61,5 $\pm$ 18,91 (7,2 – 209,0)	< 0.001
IL-8	5,21 $\pm$ 2,17 (0,5 – 12,0)	12,31 $\pm$ 3,69 (0,4 – 71,7)	17,72 $\pm$ 6,63 (0,6 – 77,9)	< 0.001
IL-10	4,36 $\pm$ 1,11 (0,7 – 7,8)	8,70 $\pm$ 3,6 (0,2 – 62,5)	94,70 $\pm$ 52,11 (2,3 – 545,1)	< 0.001
TNF- $\alpha$	2,17 $\pm$ 0,70 (0,4 – 4,7)	3,62 $\pm$ 0,80 (0,1 – 14,7)	12,74 $\pm$ 1,46 (4,7 – 24,8)	< 0.001

Въпреки значимите индивидуални отклонения в цитокиновото ниво, което свързваме с подстадии на

заболяването и хистологичния тип (обект на по-нататъшното ни проучване), е видно значимото завишаване на цитокиновото ниво на 3-тия час след О в сравнение с R, като най-силно изразено е увеличението на IL-6 и IL-10 ( $p < 0.001$ ).

Постоперативното ниво на IL-6, IL-10 и TNF- $\alpha$  е по-ниско при миниинвазивните хирургични интервенции при неопластични пациенти и това допринася за ранното възстановяване, значимо намалява времето на хоспитализация. Изброените констатации, като резултат от нашето проучване, имат значение за патогенетичното клинично-диагностично мислене, избор на оперативен подход, следоперативни грижи, близка и по-далечна прогноза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клинично са диагностицирани 97 жени с обезитас в I<sup>-вн</sup> стадий на ендометриален карцином. Избраните пациентки се характеризират с наднормено тегло в различни степени на затлъстяване. Критерият за избор на хирургичен метод е съобразен с индивидуалните клинични характеристики на пациентите, попълнени в специално създадена анкетна карта.

Извършени са оперативни интервенции с роботизирана (62 жени) и отворена (35 жени) оперативна техника в клиника по Онкогинекология – Плевен, от един и същи екип. За роботизираните интервенции е използвана хирургична система Da Vinci S (Intuitive Surgical System, Inc., Sunnyvale, CA).

Наличието на съвременни анестезиологични, фармакологични, технологични възможности за оперативна интервенция (като миниинвазивна хирургия), смъртността на жените с диагностициран ендометриален карцином остава все още висока, което налага комплексна имунологична оценка. Затова в хирургичната практика все повече се повишава интересът към групата на цитокините, като независими прогностични фактори – маркери за агресивност и възможност за терапевтично повлияване на неопластичния процес.

Изследвани са серумните нива на цитокини IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  в предоперативния, в ранния следоперативен (3<sup>-ти</sup> час), и в по-късния следоперативен период (3<sup>-ти</sup> ден). Направено е сравнително проучване на цитокиновия профил от изследваните параметри при жени, оперирани чрез роботизирана и отворена оперативна техника. Направено е съпоставяне на изследваните параметри с вида на оперативната интервенция и степента на наднорменото тегло.

Установена е голяма честота на наднормено тегло при жени с ендометриален карцином. При сравнителното проучване на оперирани с роботизирана и отворена хирургия,

се наблюдава значимо завишаване на серумното цитокинно ниво – за IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  в ранния следоперативен период (3<sup>-тия</sup> час) при оперираните с отворена оперативна техника.

Доказано е имунощадящата роля на роботизираната спрямо конвенционалната хирургия при жени с наднормено тегло в различни степени на затлъстяване с I<sup>-ви</sup> стадий на ендометриален карцином.

Не са много проучванията за нивото на цитокини при неопластични процеси, в частност ендометриален карцином и влиянието на оперативната интервенция върху серумното им ниво, както и значението им като близки, както и по-далечни прогностични фактори. У нас, все още не е създаден държавен стандарт спрямо икономическите показатели при двата хирургически метода.

Приемането и внедряването на миниинвазивната хирургичната система Da Vinci в България за лечението на ендометриален карцином (I<sup>-ви</sup> стадий) намалява така наречения „цитокинов взрив“, понижаваш следоперативния риск, и дните на реанимационни грижи и хоспитализация.

## ИЗВОДИ

На базата на резултатите, получени от първото по рода си в България систематично изследване на цитокиновия профил при жени с обезитас в I<sup>ВІ</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани чрез роботизирана и конвенционална хирургична интервенция, могат да бъдат направени следните изводи:

- Установихме, че честотата на ендометриалния карцином се асоциира във висока степен със затлъстяването. При жени с BMI > 30kg/m<sup>2</sup> съществува три пъти по-висок риск от развитие на заболяването.
- Доказахме, че в хирургичната практика цитокините могат да се използват като независими прогностични фактори за агресивност и възможност за терапевтично повлияване на неопластичния процес.
- Доказахме, че миниинвазивната хирургия показва намален остро-фазов отговор в сравнение с отворените процедури.
- Установихме по-малко кръвозагуба при роботизираните операции на ендометриален карцином, в сравнение с отворените оперативни интервенции, добър физически и психологически комфорт в следоперативния период след роботизираните оперативни интервенции.

## **ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

### **Приноси с оригинален характер**

1. За първи път у нас са изследвани серумни нива на цитокини интерлевкини 6, 8, 10, TNF- $\alpha$  (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ ) при жени с I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином.
2. За първи път у нас е извършено сравнително проучване на цитокини интерлевкини 6, 8, 10, TNF- $\alpha$  (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ ) след оперативна интервенция при жени с I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином, оперирани с роботизирана техника и конвенционална отворена хирургия.

### **Приноси с научно - приложен характер**

1. Доказана е имуно-щадящата роля на роботизираната техника спрямо конвенционалната хирургия при жени с наднормено тегло в различни степени на затлъстяване с I<sup>ВН</sup> стадий на ендометриален карцином.
2. Установено е, че клинично-имунологичното проучване на цитокиновия профил (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ ) допринася за прогностична оценка при неопластични заболявания, и в частност ендометриален карцином и утвърждаване на роботизираната хирургия като избор за лечение при жени с наднормено тегло.



## СПИСЪК ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ВКЛЮЧЕНИ В ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

### Статии:

1. **T. Dimitrov**, Gr. Gorchev, S. Tomov, „*The influence of cytokine profile and choice of surgical intervention in patients with obesity*“, Intern. J. of Sci. and Res., Vol. 4, Issue 7, 2015, 180-183; ISSN(online): 2319-7064.

2. **Т. Димитров**, Гр. Горчев, С. Томов, „*Роля на цитокиновия профил при лечение на жени в i-ви стадий на ендометриален карцином (обзор)*“, Спис. Акуш. и Гинек., Брой 6, 2015, стр. 35-38, ISSN 0324-0959

3. **Т. Димитров**, Гр. Горчев, С. Томов, К. Цветанова, „Имунопатологични промени при жени със обезитас (затлъстяване) в I<sup>вн</sup> стадий на ендометриален карцином оперирани чрез отворена и роботизирана хирургия“, Спис. Акуш. и Гинек., 2015, приета за печат

### Участия в научни форуми:

1. **Todor Dimitrov**, Grigor Gorchev Slavcho Tomov, “The influence of cytokine profile and choice of surgical intervention in patients with obesity”, 4<sup>th</sup> International Congress in Robotic Surgery, 29-31 October 2015, Bucharest, Romania, **Oral presentation**

2. **Т. Димитров**, Гр. Горчев, С. Томов, Л. Танчев, „Роботизираната хирургия – алтернатива при лечението на пациенти със обезитас (затлъстяване) в I<sup>вн</sup> стадий на

ендометриален карцином“, V<sup>та</sup> Национална Конференция по минимално инвазивна гинекологична хирургия с международно участие, 1-3 Октомври 2015, Стара Загора, България, **Устен доклад**

**3. Slavcho Tomov, Todor Dimitrov, Grigor Gorchev**, “*The impact of robot-assisted surgery on the treatment of endometrial cancer*”, 7<sup>th</sup> Annual SERGS Meeting, June 11-13, 2015, Istanbul, Turkey.

**4. Димитров Т.**, К.Цветанова, Л.Танчев, Гр.Горчев, Сл.Томов, “*Системен имунно-възпалителен отговор при миниинвазивни и конвенционални онкогинекологични операции*”, XIII-ти национален конгрес по акушерство и гинекология, V<sup>-ти</sup> национален конгрес на акушерите, Пловдив, 13-16 Март 2014 г., стр.13, **Устен доклад**

**5. Тодор И. Димитров**, Камелия Т. Цветанова, Даниела Ю. Петрова, „Промени в системният имуно-възпалителен отговор при роботизирани и отворени онкогинекологични операции“, УМБАЛ „Д-р Г. Странски“ ЕАД, гр. Плевен“, 40-годишна Юбилейна Научна Конференция на МУ-Плевен, **2014**