

# Влияние циркуляции опухолевых клеток в крови на прогноз при операциях на печени по поводу злокачественных опухолей

Д.м.н., проф. Ю.И. ПАТЮТКО, д.м.н., проф. Н.Н. ТУПИЦЫН, д.м.н., проф. И.В. САГАЙДАК, к.м.н. Д.В. ПОДЛУЖНЫЙ, к.м.н. А.Л. ПЫЛЕВ, к.м.н. Д.А. ЗАБЕЖИНСКИЙ

## The prognostic value of tumor cells blood circulation after liver surgery for cancer lesions

YU.I. PATYUTKO, N.N. TUPITSIN, I.V. SAGAIDAK, D.V. PODLUZHNIY, A.L. PILEV, D.A. ZABEZHINSKIY

Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАНН, Москва

Одним из факторов, существенно влияющих на вероятность и частоту метастазирования, является уровень циркуляции опухолевых клеток в крови. Основной задачей настоящего исследования является определение степени влияния циркуляции микрометастазов в кровяном русле на этапе резекции печени на выживаемость больных с опухолевым поражением печени в отдаленные сроки. В хирургическом отделении опухолей печени и поджелудочной железы РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАНН с 1990 по 2007 г. находились на лечении 33 пациента с опухолевым поражением печени различных первичных локализаций. Для определения циркуляции в крови микрометастазов использовали иммуноцитологический метод с применением антител к панцитокератинам KL-1 и CAM 5.2. Отсчет количества выявленных опухолевых комплексов проводили по отношению к 1 млн кровяных клеток (эритроцитов), при этом максимальное количество определяемых комплексов равнялось трем. У 72,7% больных отмечено колоректальное метастатическое поражение печени. Большинство составили больные с множественным опухолевым поражением — 39,4% и размером опухоли менее 4,0 см — 48,5%. У 8 больных забор крови проводили 1 раз — после мобилизации печени, у остальных 25 — дважды: до мобилизации печени и после. Из проведенных 58 анализов положительный результат на наличие опухолевых комплексов был получен в 25. Наибольшее число опухолевых клеток было выявлено при множественном поражении печени (13 из 58 исследований). Выживаемость в отдаленные сроки мы сочли уместным оценить на примере пациентов с колоректальным метастатическим поражением печени, так как на долю больных с остальными нозологическими единицами приходилось менее 30% общего числа наблюдений. Трехлетняя выживаемость пациентов с наличием опухолевых клеток в крови составила  $45,7 \pm 13,1\%$ , пятилетняя —  $24,4 \pm 13,3\%$ , при отсутствии микрометастазов в крови — соответственно  $57,1 \pm 19,1\%$  и  $57,1 \pm 19,1\%$ . Трехлетняя безрецидивная выживаемость при наличии опухолевых клеток в крови составила  $20,0 \pm 10,1\%$ , пятилетней безрецидивной выживаемости не получено, при отсутствии микрометастазов в крови — соответственно  $41,7 \pm 17,7\%$  и  $41,7 \pm 17,7\%$ .

*Ключевые слова:* опухоли печени, отдаленные результаты, циркулирующие опухолевые клетки.

The study aimed to prove the prognostic meaning of micrometastases blood circulation during liver resections for cancer lesions. 33 patients took part in the study. Circulating micrometastases were detected in blood using immunocytological method with pancytokeratine antibodies KL-1 and CAN 5.2. The majority of patients had colon cancer liver metastases (72,7%). Blood was sampled once in 8 patients, the rest 25 patients had double sampling: before and after liver mobilization. Patients with multiple liver metastases demonstrated tumor cells circulation more often. Of 58 tests, 25 were positive for tumor cells. 3-year survival in those patients was  $45,7 \pm 13,1\%$ , 5-year survival was  $24,4 \pm 13,3\%$ . Survival rates for patients with no circulating tumor cells detected were significantly higher.

*Key words:* liver tumors, micrometastases, immunocytological method, survival.

## Введение

Поиск адекватной лечебной тактики при опухолевом поражении печени является важнейшей и актуальнейшей задачей современной клинической онкологии. Еще с середины прошлого века начались исследования, направленные на разработку и стандартизацию подходов к хирургическому лечению злокачественных новообразований печени. В настоящее время алгоритм лечения первичного и ме-

тастатического рака печени включает комплекс методов, к которым относятся, помимо оперативного вмешательства, применение современных лекарственных средств, а также локальные методы воздействия на опухоль, такие как крио- или термодеструкция. Широкое применение в современной клинической онкологии нашли также интервенционные радиологические вмешательства. Применение данных методик в комплексе, с учетом клинических и морфологических характеристик опухоли позволило существенно продлить жизнь этим тяжело больным, ранее подлежащим только паллиативному лечению.

© Коллектив авторов, 2011

© Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2011  
*Khirurgiia (Mosk) 2011; 6: 22*

115478 Москва, Каширское ш., 24

Однако, несмотря на колоссальный прорыв в лечении этого заболевания, считать проблему окончательно решенной в настоящий момент невозможно. По-прежнему высока частота рецидивов и метастазов даже при использовании в лечении всех существующих современных методов.

Одним из факторов, существенно влияющих на вероятность и частоту метастазирования, является уровень циркуляции опухолевых клеток в крови. Поиск факторов, влияющих на усиленное рассеивание опухолевых клеток в кровяное русло, важен как для снижения вероятности возможного прогрессирования, так и для определения новых прогностических признаков.

Учитывая, что более чем у трети больных с колоректальным метастатическим поражением печени, перенесших резекции различного объема, развиваются внепеченочные метастазы, можно предположительно связать это с рассеиванием опухолевых клеток до или во время мобилизации печени [1].

Основной задачей настоящего исследования является определение степени влияния циркулирующей микрометастазов в кровяном русле на этапе резекции печени на выживаемость больных с опухолевым поражением печени в отдаленные сроки.

## Материал и методы

В исследовании принимали участие 33 пациента с опухолевым поражением печени различных первичных локализаций. Больные находились на лечении в хирургическом отделении опухолей печени и поджелудочной железы РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН с 1990 по 2007 г. Диагноз был морфологически верифицирован.

Во всех наблюдениях интраоперационно проводили забор крови с целью определения наличия опухолевых клеток.

Для определения циркуляции в крови микрометастазов использовали иммуноцитологический (ИЦ) метод с применением антител к панцитокератинам KL-1 и САМ 5.2. Отсчет количества выявленных опухолевых комплексов производили по отношению к 1 млн кровяных клеток (эритроцитов), при этом максимальное количество определяемых комплексов равнялось трем.

**Таблица 1. Распределение больных в зависимости от опухолевых узлов**

Размер очагов в печени, см	Число больных	
	абс.	%
До 4,0	16	48,5
4–6	4	12,1
6–10	7	21,2
Более 10	6	18,2
Всего	33	100

У 72,7% больных отмечено колоректальное метастатическое поражение печени. Больные первичным раком печени составили 12,3% общего числа больных. Остальные первичные локализации, такие как рак желчного пузыря, рак молочной железы, феохромоцитомы, гемангиоперицитомы и карциноидная опухоль печени, составили по 3%.

Всех пациентов с неколоректальным метастатическим поражением печени объединили в одну группу, составившую 15% общего числа наблюдений.

Мы дифференцировали всех пациентов в зависимости от количества опухолевых очагов в печени. Большее количество (13, или 39,4%) составили больные с множественным опухолевым поражением. С солитарными и единичными очагами было соответственно 9 (27,3%) и 11 (33,3%) больных.

Размер опухолевых узлов колебался от 3,5 до 20 см. У большинства больных размер опухоли был менее 4,0 см — 48,5% (табл. 1).

У 8 больных забор крови проводили 1 раз — после мобилизации печени, у остальных 25 — дважды: до мобилизации печени и после (до пересечения печеночной вены при обширной резекции и перед пересечением дренирующей вены удаляемой части печени при экономной резекции).

## Результаты и обсуждение

Из проведенных 58 анализов положительный результат на наличие опухолевых комплексов был получен в 25. У большинства больных (22) опухолевые клетки в крови определялись как до, так и после мобилизации печени. У 3 больных комплексы были выявлены только после мобилизации печени. У 11 больных отношение выявленных клеток к эритроцитам составило 1/1 000 000, у 6 — 2/1 000 000 и у 8 больных — 3/1 000 000 (табл. 2).

Мы оценили зависимость частоты и количества выявленных микрометастазов крови от числа и размера резецированных опухолевых очагов в печени. Наибольшее число опухолевых клеток было выявлено при множественном поражении печени (13 из 58 исследований). При единичных и солитарных очагах в печени данный показатель составил соответственно 10 и 2 (табл. 3).

При оценке зависимости количества опухолевых комплексов от размера очагов в печени наибольший показатель получен у пациентов с размером опухоли менее 4,0 см (12 из 58). Данная закономерность объясняется, по-видимому, преобладанием в исследуемой группе пациентов с подобным размером очага ( $n=16$ ). Это мнение подтверждается и тем фактом, что из 17 больных с опухолями размером от 4,0 до 20,0 см положительный ответ на наличие микрометастазов в кровяном русле был зафиксирован у 13 (табл. 4).

**Таблица 2. Количество определяемых опухолевых комплексов в крови в зависимости от этапа мобилизации печени**

Количество опухолевых комплексов	До и после мобилизации печени	После мобилизации печени	Всего
1/1 000 000	10	1	11
2/1 000 000	4	2	6
3/1 000 000	8	—	8
Итого	22	3	25

**Таблица 3. Зависимость количества выявленных опухолевых клеток от количества очагов в печени**

Количество очагов в печени	<i>n</i>	1/1 000 000	2/1 000 000	3/1 000 000	Всего (из 58 исследований)
Солитарные	9	1	—	1	2
Единичные	11	4	2	4	10
Множественные	13	6	4	3	13

**Таблица 4. Зависимость количества выявленных опухолевых клеток от размера очагов в печени**

Размер очагов в печени, см	<i>n</i>	1/1 000 000	2/1 000 000	3/1 000 000	Всего (из 58 исследований)
До 4,0	16	5	4	3	12
4—6	4	1	1	1	3
6—10	7	3	—	1	4
Более 10	6	2	1	3	6

Из 33 больных у 25 забор крови проводили до и после мобилизации печени. Циркуляция микрометастазов в крови выявлена у 15 из них. Следует отметить, что у всех пациентов, у которых опухолевые комплексы определялись как до, так и после мобилизации печени, отмечалось возрастание титра патологических клеток после мобилизации.

Выживаемость в отдаленные сроки мы сочли уместным и целесообразным оценить на примере пациентов с колоректальным метастатическим поражением печени, так как больные с остальными нозологическими единицами составили менее 30% общего числа наблюдений. Всего в исследовании принимали участие 24 больных с метастазами рака толстой кишки в печень. У 16 из них были выявлены микрометастазы в крови на различных этапах мобилизации печени. Мы изучили выживаемость пациентов с подтвержденными опухолевыми комплексами и сопоставили полученные данные с выживаемостью больных с колоректальными метастазами в печень без микрометастазов в кровяном русле. Однолетняя выживаемость при наличии опухолевых клеток в крови составила  $73,3 \pm 11,4\%$ , трехлетняя —  $45,7 \pm 13,1\%$ , пятилетняя —  $24,4 \pm 13,3\%$ , при отсутствии микрометастазов в крови — соответственно  $85,7 \pm 13,1\%$ ,  $57,1 \pm 19,1\%$  и  $57,1 \pm 19,1\%$ .

При сопоставлении безрецидивной выживаемости в указанных группах были получены следующие результаты: при наличии опухолевых клеток в крови однолетняя выживаемость составила  $33,3 \pm 12,2\%$ , трехлетняя —  $20,0 \pm 10,1\%$ , пятилетней выживаемости не получено, при отсутствии микрометастазов в

крови — соответственно  $55,6 \pm 16,1\%$ ,  $41,7 \pm 17,7\%$  и  $41,7 \pm 17,7\%$ .

Механизмы, обуславливающие возникновение метастазов в различных органах, активно обсуждаются во всем мире. По современным представлениям, с течением времени первичная опухоль развивает собственную сеть кровеносных сосудов и ее клетки в силу слабой степени сцепления между собой могут легко отделяться друг от друга и циркулировать в кровеносном русле. При выходе этих опухолевых комплексов из сосудистого русла во внеклеточный матрикс и прохождении стадии промоции из микрометастазов формируются клинически определяемые метастазы.

Данный факт подтверждает актуальность поиска методов выявления опухолевых клеток в крови. Для определения микрометастазов в кровяном русле используются следующие методы: полимеразная цепная реакция (ПЦР), ИЦ-метод, проточная цитометрия, а также метод тканевых культур. Использование данных методик позволяет выявить циркулирующую в крови опухолевую клетку на 1 000 000 эритроцитов или клеток костного мозга. Наибольшее распространение получили МКА НЕА 125 к антигену Egp 34, антитела к цитокератинам (СК 19, СК 18), панцитокератинам (KL-1), антитела к РЭА [2—4].

По данным J. Schoenfeld и соавт. [5], применявших для определения микрометастазов в костном мозге при раке молочной железы ИЦ-метод и ПЦР, опухолевые клетки выявлялись соответственно в 22 и в 23% исследований.

У. Jung и соавт. [6] опухолевые комплексы в костном мозге обнаруживали при карциноме *in situ*.

По сведениям J. Weitz и соавт. [7], микрометастазы в крови при колоректальном метастатическом поражении печени определялись у 63,4% больных.

Мы использовали ИЦ-метод с применением антител к панцитокератинам KL-1 и САМ 5.2. для определения опухолевых клеток в крови больных со злокачественными новообразованиями печени различной этиологии. Отсчет количества выявленных опухолевых комплексов проводили по отношению к 1 млн кровяных клеток (эритроцитов), при этом максимальное количество определяемых комплексов равнялось трем.

В данном исследовании мы относились к циркуляции микрометастазов в кровяном русле как к фактору прогноза прогрессирования заболевания и продолжительности жизни, так как больные с обнаруженными опухолевыми комплексами являются группой риска с повышенной вероятностью возникновения новых метастазов после резекции печени.

Наиболее представительной группой в нашем исследовании были пациенты с колоректальным метастатическим поражением печени ( $n=24$ ). У 16 из них были выявлены опухолевые клетки в крови. В современной медицинской литературе мы не нашли данных о выживаемости в отдаленные сроки пациентов с выявленными циркулирующими опухолевыми комплексами в крови на этапе резекции печени. Сопоставив результаты общей и безрецидивной выживаемости больных с колоректальным метастатическим поражением печени с доказанной циркуляцией микрометастазов в кровяном русле и без нее, мы получили достоверно лучшие результаты в группе больных без опухолевых клеток в крови. Так, трех- и пятилетняя общая выживаемость при отсутствии микрометастазов составила  $57,1 \pm 19,1\%$  против  $45,7 \pm 13,1$  и  $24,4 \pm 13,3\%$  при наличии микрометастазов в крови, безрецидивная выживаемость пациентов без микрометастазов — соответственно  $41,7 \pm 17,7\%$  против  $20,0 \pm 10,1\%$  трехлетней и при отсутствии пятилетней у больных с микрометастазами в крови.

По нашим данным, у всех больных, у которых определялись опухолевые комплексы в крови до этапа мобилизации печени, после мобилизации возрастал титр патологических клеток, что, по-видимому, объясняется механической травмой опухоли и рассеиванием микрометастазов в кровеносное русло. Полученные данные подтверждают материалы исследования J. Weitz и соавт., проводивших забор крови для определения опухолевых комплексов до, во время и после операции по поводу колоректального метастатического рака печени. Наиболее часто микрометастазы определялись в крови во время операции [8].

В связи с установленным фактом, что мобилизация пораженного участка печени на этапе резекции приводит к усилению выброса опухолевых клеток в кровяное русло и, как следствие, к повышенной вероятности метастазирования, актуальнейшим в современной хирургической онкогепатологии стал поиск методов, предотвращающих данное явление. В последние годы выдвинут принцип «no-touch surgery», который может быть переведен на русский язык как «бесконтактная хирургия». Впервые описание «бесконтактной» техники хирургии при операциях на печени было предложено К. Ozawa [9]. Метод включает первоначальное выделение и рассечение правых или левых портальных воротных структур печени, последующее рассечение печеночной паренхимы по передней поверхности вглубь до нижней полой вены, пересечение соответствующих печеночных вен и только на последнем этапе — мобилизацию печени из окружающих структур. Данная методика позволяет свести к минимуму манипуляции с несущей опухоль долей печени и, как следствие, уменьшить возможность диссеминации опухолевых клеток.

Модификацией данной методики является «hanging»-маневр. Использование данного метода позволяет более четко визуализировать границу разделяемой паренхимы печени. Суть этого приема заключается в том, что после обработки портальных воротных структур в кавальных воротах печени визуализируется устье правой и средней печеночных вен, по борозде между ними раздвигают паренхиму печени, создавая туннель между ней и передней стенкой нижней полой вены. Далее, отодвигая паренхиму печени вверх и лигируя короткие печеночные вены, формируют туннель между нижней полой веной и печеночной паренхимой со стороны портальных ворот печени. В сформированный туннель проводят держалку, подтянув за которую мы получим четкую границу между долями печени. Следующими этапами являются разделение паренхимы, перевязка дренирующей долю печеночной вены и только после этого — выделение удаляемой доли из окружающих структур.

Таким образом, мы достигаем минимальной травматизации пораженной паренхимы печени и как следствие снижаем выброс опухолевых клеток в кровяное русло.

Методику «no-touch surgery» с использованием «hanging»-маневра мы начали активно применять менее года назад и не имеем возможности изучить отдаленные результаты. Оценивая непосредственные результаты, мы не столкнулись с какими-либо осложнениями, связанными с использованием этой техники. Все пациенты данной группы находятся под тщательным диспансерным наблюдением для последующей оценки выживаемости в отдаленные сроки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Патютко Ю.И.* Хирургическое лечение злокачественных опухолей печени. М 2005.
2. *Franke W. et al.* Diversity of cytokeratins: differentiation specific expression of cytokeratin polypeptides in epithelial cells and tissues. *J Mol Biol* 1981; 153: 933—959.
3. *Moll R. et al.* The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1992; 31: 11—24.
4. *Winter S. et al.* Differences in polypeptide composition of cytokeratin filaments, including tonofilaments, from different epithelial tissues and cells. *Eur J Cell Biol* 1980; 22: 371.
5. *Schoenfeld et al.* The detection of micrometastasis in the peripheral blood and bone marrow with breast cancer using immunohistochemistry. *Eur J Cancer* 1997; 33: 6: 854—861.
6. *Jung Y. et al.* Clinical significance of bone marrow micrometastasis detected by nested RT-PCR for Keratin 19 in breast cancer patient. *Eur J Cancer* 2000.
7. *Weitz J. et al.* Detection of dissemination colorectal cancer in lymph nodes, blood and marrow. *Clin Cancer* 1999; 1830—1836.
8. *Weitz J. et al.* Detection of hemotogenic tumor cell dissemination in patient undergoing resection of liver metastasis of colorectal cancer. *Ann Surg* 2000; 232: 66—72.
9. *Ozawa K.* Nonconventional approaches to advanced liver cancer. In liver surgery approaches through the mitochondria. Tokyo: Medical Tribune 1992; 117—165.

Поступила 22.10.10