



О.І. Дронов¹, Є.А. Крючина¹, Д.І. Хоменко¹,
А.І. Горлач², Д.І. Любенко²,
Р.Д. Добуш², Є.С. Козачук²

ПРОФІЛАКТИКА ДИСЕМІНАЦІЇ КЛІТИН ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

² Київський центр хірургії захворювань печінки, жовчних шляхів та підшлункової залози імені В.С. Земскова

Ключові слова: судинна ізоляція пухлини, ізольовані пухлинні клітини, мікрометастази, криофіксація пухлини, масивний інтраопераційний перитонеальний лаваж.

Незадовільні результати комплексного лікування хворих з резектабельним раком підшлункової залози пов'язані, на думку вчених, з інтраопераційною дисемінацією пухлинних клітин. Проаналізовано методи профілактики дисемінації клітин злоякісних пухлин підшлункової залози: криофіксацію пухлини, судинну ізоляцію, масивний інтраопераційний перитонеальний лаваж. Розглянуто методи діагностики ізольованих пухлинних клітин та перспективи пошуку методів поліпшення виживаності хворих з раком підшлункової залози.

Рак підшлункової залози (РПЗ) — одне з найнебезпечніших злоякісних новоутворень, при якому медіана виживаності в середньому становить близько 6 міс, а рівень загальної 5-річної виживаності — 3—5 % [23].

У Великій Британії рівень 5-річної виживаності серед пацієнтів, хворих на РПЗ, становить лише 3 %, і залишається без змін протягом останніх 40 років.

За даними Національного канцер-реєстру, у 2009 р. загальна кількість випадків захворювання на РПЗ в Україні становила 4806 (2584 чоловіки і 2222 жінки), захворюваність на 100 тис. населення — 10,46. Загальна кількість померлих — 3950. Летальність на 100 тис. населення — 8,59. Не прожили 1 року з тих, хто вперше захворів у 2009 р., 77,0 %. Охоплено спеціалізованим лікуванням 23,6 % первинних хворих, з них отримали лише хірургічне лікування 53,0 %. За оперативною інформацією Національного канцер-реєстру, в 2010 р. загальна кількість випадків захворювання на РПЗ становила 4628 (2533 чоловіки та 2156 жінок). Захворюваність на 100 тис. населення — 10,24. Кількість зареєстрованих смертей — 3897. Летальність на 100 тис. населення — 8,51. З тих, що вперше захворіли у 2010 р., I—II стадію згідно з класифікацією TNM₀

мали 26,9 %, III — 21,4 %, IV — 32,3 %, невизначену — 18,8 % [10].

За оцінками Американського онкологічного товариства, в США у 2010 р. виявлено близько 43 140 нових випадків РПЗ (21 370 чоловіків і 21 770 жінок), а померло від РПЗ 36 800 хворих (18 770 чоловіків і 18 030 жінок) [18].

За прогнозом В.Д. Smith та співавт., кількість нових випадків захворювання на РПЗ у період з 2010 до 2030 р. збільшиться на 55 % [30].

Резектабельність злоякісних пухлин підшлункової залози (ПЗ) становить, за різними джерелами, від 10 до 20 % [33, 43, 52].

У Великій Британії радикальні операції у хворих на РПЗ виконують лише в 10 % випадків, що зумовлено пізньою діагностикою захворювання [44]. Частота виконання радикальних та умовно радикальних втручань становить близько 40 % в Японії і безперервно зростає в інших країнах [6]. Рівень виживаності пацієнтів після радикального хірургічного лікування залишається вкрай низьким [21]. П'ятирічна виживаність пацієнтів, яким вдається виконати радикальне хірургічне втручання, перевищує 5 % лише у великих спеціалізованих центрах [6]. У хворих, яким виконують ради-

кальну (R0)-резекцію, медіана виживаності в середньому становить 20 міс, 5-річна виживаність — 24 %, тоді як при R1- та R2-резекції медіана виживаності дорівнює у середньому 15 і 10 міс відповідно, а при R+ статусі ураження виживаність становить менше 4 % [46].

Рівень 5-річної виживаності у пацієнтів, яким виконали резекцію ПЗ з приводу її злоякісного пухлинного ураження, становить від 10 до 25 % [15, 21, 41] з медіаною виживаності від 12 до 14 міс [48].

У 80 % радикально оперованих хворих на РПЗ у перші два роки після оперативного лікування виникає локальний рецидив захворювання або виявляють віддалені метастази, перитонеальну дисемінацію [21, 48, 49].

У всіх пацієнтів, хворих на РПЗ, яким проводили лише хірургічне лікування у вигляді резекції ПЗ, у післяопераційний період локорегіонарний рецидив розвивається в 50—80 % випадків, перитонеальну дисемінацію виявляють в 25 % випадків, метастази в печінку — в 50 % [14]. A.L. Warshaw та співавт. наводять дані, що після радикальної резекції ПЗ з приводу її злоякісного пухлинного ураження локорегіонарний рецидив має місце в 50 % випадків, перитонеальна дисемінація — в 40—60 % випадках, а метастази в печінку — в 50—60 % [58]. За даними A. van den Broeck та співавт., рецидив пухлини, метастази в печінку і/або перитонеальна дисемінація розвиваються в більш ніж 60 % випадків у перші два роки після радикального хірургічного лікування у хворих на РПЗ [56].

Теоретично, пацієнти зі статусом R0 та N0 повинні мати кращі віддалені результати. Однак хворі на РПЗ I стадії зі статусом R0 також мають вкрай низький рівень 5-річної виживаності (менше 17 %), що пов'язано з появою ранніх метастазів після радикального хірургічного лікування і дисемінацією пухлинних клітин, не виявленою традиційними діагностичними методами до проведення оперативного втручання. Сучасні методи візуалізації, такі як мультиспіральна комп'ютерна томографія та магнітно-резонансна томографія, мають певні обмеження щодо виявлення вогнищ, діаметр яких менший за 3—5 мм, що відповідає кількості близько 108 пухлинних клітин. Останніми роками для виявлення дисемінованих пухлинних клітин застосовують імуногістохімічний метод та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) [54].

Появу локального рецидиву пов'язують зі складністю досягнення мікроскопічно-негативної лінії резекції, особливо на ретроперитонеальній ділянці [51]. Один із чинників, який суттєво впливає на вірогідність і частоту метастазування, — рівень циркуляції ізольованих пухлинних клітин у крові [1].

На думку D. Su та співавт., формування метастатичної хвороби залежить від властивостей дисемінованих пухлинних клітин. Основна кількість ізольованих пухлинних клітин (ІПК), що вільно циркулюють у крові, руйнується вже в судинному

руслі внаслідок дії гемодинамічних чинників та взаємодії з клітинами імунної системи. В експериментальних дослідженнях показано, що ізольовані пухлинні клітини в периферичному кровообігу швидко підлягають апоптозу, крім тих випадків, коли вони змогли приєднатися до сусідніх клітин чи позаклітинного матриксу на віддалених від первинної пухлини ділянках [54].

Лише мала частка пухлинних клітин, що циркулюють (0,05 %), зберігають життєздатність та можуть формувати вторинні вогнища пухлинного ураження [13].

Механізми, які зумовлюють виникнення метастазів у різних органах, активно обговорюються. Згідно із сучасними уявленнями, з часом первинна пухлина розвиває власну мережу кровоносних судин, її клітини внаслідок слабкого міжклітинного зв'язку між собою можуть легко відділитися одна від одної та циркулювати в судинному руслі. У разі виходу цих пухлинних комплексів із судинного русла в позаклітинний матрикс і проходження стадії промоції із мікротастазів формуються метастази, які клінічно визначаються [1].

Незадовільні результати лікування хворих на РПЗ може спричиняти генералізація процесу до розвитку клінічних виявів захворювання, тобто коли мікроскопічне поширення пухлинних клітин передеє макроскопічним виявам дисемінації. Теоретично можливість метастазування виникає з початком ангиогенезу в пухлині, тобто коли вона досягає в діаметрі 1 мм [29]. Терміни клінічного вияву віддалених метастазів (чи тривалість так званого безрецидивного періоду, тобто часу від первинного лікування до клінічної маніфестації метастазів) залежать від біологічних особливостей пухлини, зокрема від порогу метастазування і швидкості росту [7].

Відсутність протягом деякого часу віддалених метастазів у печінку, по черевині, в лімфатичні вузли середостіння та периферичні групи підтверджує, що РПЗ, подібно до більшості інших солідних пухлин, деякий час є місцевим чи місцево поширеним процесом. Виявлення окремих пухлинних клітин у периферичній крові або кістковому мозку навряд чи свідчить про генералізацію захворювання, їхня наявність не означає наявності метастазування [9].

Термін «ізольовані пухлинні клітини» спірний, оскільки клінічне і прогностичне значення таких знахідок на цей час не доведене і залишається дискусійним. Виявлення ІПК, що вільно циркулюють, у периферичній крові, на думку деяких учених, може бути прогностичним чинником у хворих на РПЗ.

Поняття «мікротастаз» та «ІПК» не тотожні. До ІПК слід відносити окремі клітини і дрібні клітинні кластери, які не перевищують 0,2 мм, їх виявляють імуногістохімічними чи молекулярними методами [53]. Мікротастазами називають метастатичні ураження розміром від 0,2 до 2,0 мм [53]. Для мік-

рометастазів характерні типові морфологічні ознаки метастазів, їх можна виявити при ретельному вивченні гістологічних препаратів [20]. ІПК зазвичай не мають морфологічних ознак метастатичної активності (проліферація поза синусоїдами, реакція строми, контакт чи penetрація стінки судини або лімфатичних синусів).

Триває дискусія щодо значення 0,2 мм, прийнятого для розмежування мікрометастазів та ІПК. Переконливих даних на користь застосування саме цього значення немає. У багатьох роботах поняття «мікрометастази» та «ІПК» об'єднані. До отримання нових наукових даних пропонують застосовувати термін «мінімальне пухлинне ураження», під яким розуміють і мікрометастази, і ІПК [6]. D. Su та співавт. (2005) для зручності ведення наукових дискусій запропонували об'єднати поняття «ІПК» та «мікрометастази» у термін «дисеміновані пухлинні клітини» [54].

На думку G. Sergeant та співавт. (2011), післяопераційний період характеризується тимчасовими змінами в імунній системі, що виявляються пригніченням протипухлинної відповіді організму та підвищенням імовірності появи метастазів. Вивільнення певних медіаторів (ІЛ-6, ІЛ-8, VEGF) у гострій фазі запалення на ділянці післяопераційної рани виявляється ефектом стимуляції росту вогнищ мінімального пухлинного ураження.

Доопераційне виявлення у периферичній крові пухлинних клітин, що циркулюють, може відображати процес періодичного потрапляння в судинне русло пухлинних клітин, а не справжній метастатичний потенціал первинної пухлини. Метастазування — це процес, при якому злоякісні клітини, що циркулюють, майже відразу виходять із судинного русла. Велика кількість злоякісних клітин, які втратили зв'язок з пухлиною ПЗ, потрапляють первинно в систему портального кровотоку, а потім, долаючи печінковий бар'єр, — у системний кровообіг. При цьому більшість пухлинних клітин, що циркулюють, які подолали печінковий бар'єр, мають знижену вітальність. У дослідженні G. Sergeant та співавт. показано, що найбільший рівень ІПК визначається в периферичному кровообігу після резекції ПЗ та швидко знижується до кінця першої доби післяопераційного періоду. Більшість ІПК, які зберегли вітальність, затримуються в позасудинному руслі, лімфатичних вузлах, легенях, печінці, кістковому мозку, залишаються в латентному стані багато років і можуть ніколи не спричинити рецидив захворювання [47].

Гіпотеза розвитку злоякісної пухлини із малої субпопуляції стовбурових клітин виникла після припущення низкою вчених, що метастази — це результат поширення саме стовбурових пухлинних клітин [58].

Існує теорія стовбурових ракових клітин, згідно з якою лише певна частина злоякісних пухлинних клітин, а саме ракові стовбурові клітини, здатні

екстенсивно поширюватися та формувати нові пухлинні вогнища. В майбутньому, на думку G. Sergeant та співавт., кількісне визначення популяції стовбурових ракових клітин у периферичній крові чи перитонеальній порожнині у хворих на РПЗ може виявитися набагато кращим прогностичним чинником, ніж кількісне визначення всіх ІПК, що вільно циркулюють [50].

Актуальним є пошук методів та способів запобігання дисемінації злоякісних клітин під час виконання оперативних втручань на ПЗ.

СУДИННА ІЗОЛЯЦІЯ

ПУХЛИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

Логічним та зрозумілим є прагнення провідних хірургічних колективів поліпшити як безпосередні, так і віддалені результати лікування хворих із злоякісними пухлинами ПЗ і періампулярної зони.

Для поліпшення віддалених результатів лікування (збільшення рівня безрецидивної та загальної виживаності) у хворих на РПЗ, яким було виконано радикальні оперативні втручання, застосовують методи як системного (хіміо-, радіо-, імуно- і таргетна терапія), так і локального інтраопераційного впливу на пухлину. Методи локального інтраопераційного впливу (судинна ізоляція, кріофіксація, інтраопераційна радіотерапія, хіміо-променева терапія, масивний інтраопераційний перитонеальний лаваж) спрямовані на профілактику інтраопераційної дисемінації пухлинних клітин.

Невелика кількість робіт присвячена дослідженню ефективності застосування судинної ізоляції пухлин ПЗ перед їх видаленням [7, 26, 31, 32, 42, 45]. Вперше цю методику було запропоновано групами японських учених S. Kobayashi та співавт. і M. Hirota та співавт. незалежно одна від одної [32, 36].

Виконання пальпаторно-тракційних маніпуляцій з пухлиною під час проведення панкреатодуоденальної резекції (ПДР), дистальної резекції ПЗ до ізоляції судин, що оточують, супроводжується підвищенням проникнення пухлинних клітин у кров портальної вени, системний кровообіг, ретроперитонеум і/або вільну черевну порожнину, що є основною причиною незадовільних результатів лікування цієї категорії хворих. В основі концепції No-Touch Isolation Technique (NTIT) лежить принцип, згідно з яким будь-які тракційні, пальпаторні маніпуляції з пухлиною не виконують до проведення повної судинної ізоляції [32, 36].

У працях M. Hirota та співавт. детально описано техніку та етапність виконання no-touch ПДР [45]: на відстані 2,5 см від пілоричного жому антральний відділ шлунка пересікають із застосуванням лінійного степлера, що відкриває доступ до перешийка ПЗ. Після мобілізації жовчного міхура загальну печінкову протоку і гастродуоденальну артерію пересікають. VMS-PV виділяють по нижньому краю перешийка ПЗ. Праву шлунково-

сальникову вену лігують і перетинають у разі пухлин великого дуоденального сосочка та дистального відділу холедоха. Задню поверхню перешийка ПЗ тунелюють за допомогою тупого дисектора. Після лігування правого боку ПЗ і перевірки гемостазу капсули ПЗ перетинають ПЗ. Задньо-латеральний край VMS та PV ретельно мобілізують та беруть на «утримувальну лігатуру». Піднімаючи цю лігатуру, визначають окремі дрібні вени, які відходять від ПЗ та дренуються в систему PV-VMS. Венозні притоки портальної вени лігують та розділяють до того, як повністю відмобілізують PV-VMS від головки ПЗ. Протягом виконання цього етапу операції головку ПЗ жодного разу не стискають у руках хірурга. Не виконують маневр за Кохером. Якщо пухлина поширюється на PV-VMS, то проводять резекцію ділянки інвазії PV-VMS. Це зазвичай виконують за допомогою обхідного штучного шунтування між клубовою веною та внутрішньопечінковою частиною портальної вени крізь параумбілікальну вену (чи між клубовою та стегною веною крізь підшкірну вену) використовуючи антитромбогенний катетер. Таким чином, сегмент PV-VMS, де має місце інвазія пухлини, є затисненим між зажимами. Виконують резекцію з подальшою реконструкцією без лімітування в часі. Цю методику запропонували А. Nakaо та Н. Takagi [41].

Коли розкривається просвіт портальної вени, М. Hirota та співавт. рекомендують проводити адекватну аспірацію крові та промивання, оскільки кров портальної вени може містити вільні пухлинні клітини, які можуть потрапити в черевну порожнину, що може призвести до перитонеальної дисемінації [31].

Відома техніка no-touch ПДР за Н. Nagai. В Японії її знають як Jichi method. Ця методика, так само як і запропоновані методики М. Hirota та S. Kobayashi, передбачає повну перев'язку всіх артерій, вен, лімфатичних проток панкреатодуоденального комплексу, перетин зв'язки крючкоподібного відростка і як завершення оперативного втручання — не стандартну мобілізацію дванадцятипалої кишки за Кохером, а так звану реверсовану кохеризацію, при якій мобілізацію комплексу проводять у напрямку від верхніх брижових судин зліва направо [40].

В.М. Копчак та співавт. у період з 2008 р. до березня 2011 р. виконали no-touch ПДР за Н. Nagai у 24 хворих. Незначна кількість пацієнтів та короткі терміни післяопераційного нагляду (максимально — 34 міс) не дали їм змоги зробити власні висновки про ефективність цієї методики для підвищення рівня 5-річної виживаності [7].

У праці М. Hirota наведено техніку виконання судинної ізоляції пухлин, локалізованих у тілі та хвості ПЗ. Після лапаротомії виділяють *v. colica media* та *v. mesenterica superior*, визначають лінію резекції та перетинають ПЗ. Ця процедура дає змогу лігувати

a. lienalis та *v. lienalis* у місці їх відходження/впадіння в магістральну судину. На наступному етапі лігують *v. gasroepiploicae sinistrae* та *vv. gastricae brevis*. На кінцевому етапі ПЗ мобілізують від дорзального листка фасції Gerota, видаляють селезінку, хвіст і тіло ПЗ. Пересічені кінці панкреатичної протоки, лімфатичні судини і нерви лігують для запобігання дисемінації пухлинних клітин [31].

На практиці не вдається видалити головку ПЗ без стискання пухлини, оскільки етапи виконання ПДР потребують пальпаторно-тракційних маніпуляцій з гастропанкреатодуоденальним комплексом. Тому тривають пошуки альтернативних методів профілактики дисемінації пухлинних клітин.

КРІОФІКСАЦІЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

На нинішньому етапі надію поліпшити показники лікування хворих на РПЗ пов'язують із застосуванням криогенної техніки. Кріоабляція злоякісних пухлин ПЗ має виражену антибластичну дію. Абластичний ефект кріовпливу пов'язаний зі здатністю низькотемпературної дії на пухлину спричинити тромбоз артерій до 2,5 мм та вен до 6 мм у діаметрі та некроз судин малого діаметра (артеріол, капілярів) [3, 5]. Тому кріоабляція злоякісних пухлин створює оптимальні умови для запобігання транслокації їхніх клітин у судинне та лімфатичне русло, запобігає метастазуванню життєздатних пухлинних клітин, яке, як відомо, посилюється під час мобілізації та видалення комплексу, до складу якого входить пухлина. Навіть ті злоякісні клітини, які втратили контакт з основною пухлиною і потрапили в судинне та лімфатичне русло в процесі видалення пухлини, є нежиттєздатними в результаті попередньої низькотемпературної дії [5, 7, 8].

Використання кріохірургічної абляції пухлини перед її видаленням є перспективним напрямом, який дасть змогу знизити рівень інтраопераційної дисемінації пухлинних клітин під час оперативних втручань на ПЗ у хворих на РПЗ. Існує невелика кількість праць, в яких описано такі дослідження.

У 1994 р. О.О. Литвиненко оприлюднив результати попередньої деструкції пухлини підшлункової залози та промороження лінії розтину тканини при її резекції. Запропонована ним криогенна деструкція була виконана у 24 хворих, з них під час виконання ПДР — у 18, у решти — при дистальній резекції. Ускладнення в післяопераційний період виникли у 14 (26,4 %) хворих. Померло 3 (5,66 %) пацієнти [5].

М.Д. Ханевич та співавт. у своїй публікації навели результати застосування кріодії рідким азотом у 34 пацієнтів із РПЗ. У 20 випадках виконано ПДР, в 11 — дистальну резекцію, у 3 — панкреатектомію. Трирічна виживаність у разі застосування кріодії становила 21,5 %, без застосування кріодії — 13,3 %. Це, насамперед, пов'язано з підвищенням абластики під час хірургічних втручань. Таким чи-

ном, застосування криодії при радикальних хірургічних втручаннях з приводу РПЗ дає змогу поліпшити трирічну виживаність [4].

Через небезпеку некрозу дванадцятипалої кишки криохірургічний метод не можна використовувати у хворих з пухлиною головки ПЗ як самостійний метод лікування. Ю.И. Патютко та співавт. застосовували криодеструкцію резектабельної пухлини головки ПЗ для запобігання дисемінації при механічному пошкодженні пухлини під час її мобілізації, потім хворим виконували стандартну гастропанкреатодуоденальну резекцію. Таку методику було використано у двох хворих. Тривалість життя першого хворого станом на травень 2006 р. — 37 міс, другого — 22 міс [9].

МАСИВНИЙ ІНТРАОПЕРАЦІЙНИЙ ПЕРИТОНЕАЛЬНИЙ ЛАВАЖ

Висока частота виявлення злоякісних клітин у вільній черевній порожнині при РПЗ зумовила проведення клінічних досліджень. Виявлення ізольованих пухлинних клітин у черевній порожнині у хворих на РПЗ асоціюється з несприятливим прогнозом та вірогідно корелює з рівнем післяопераційної виживаності [37].

Деякі вчені вважають за доцільне доповнювати завершальний етап оперативних втручань на органах черевної порожнини з приводу злоякісного їх ураження, в тому числі при карциномі ПЗ, масивним інтраопераційним перитонеальним лаважем (МІПЛ). Спочатку метод застосовували як спосіб профілактики перитонеальної дисемінації при раку шлунка [26], а потім ПЗ [17, 25, 26, 38].

МІПЛ — надзвичайно простий і неагресивний метод профілактики перитонеальної дисемінації. Для його проведення необхідний лише теплий стерильний фізіологічний розчин (0,9 % розчин NaCl).

В експерименті, проведеному Р. Favoulet та співавт., доведено, що перитонеальна масивна санація фізіологічним розчином не може видалити та знищити пухлинні клітини в хірургічній рані чи адгезовані до очеревини. Посилити протипухлинний ефект під час проведення МІПЛ можна, додаючи до розчину антисептики або антиадгезивні середники [28].

Дискутабельним залишається питання щодо визначення мінімального об'єму фізіологічного розчину, необхідного для ефективного проведення інтраопераційного перитонеального лаважу. G. Sergeant пропонує проводити інтраопераційний перитонеальний лаваж 500 мл фізіологічного розчину, H. Juhl та співавт., I. Vogel та співавт. — 1000 мл, M. Hirota, S. Shimada — 5—10 л.

T. Marutsuka та співавт. проводили дослідження перитонеальних змивів 63 пацієнтів з аденокарциномою шлунка без інвазії в серозну оболонку. Зразки перитонеальних змивів брали безпосередньо після лапаротомії та лімфодисекції. В зразках перитонеальних змивів визначали кількісним ме-

тодом рівні раковомембріонального антигену (РЕА) та цитокератину-20 мРНК за допомогою ПЛР. ІПК виявляли в кількості від $(3,8 \pm 1,4) \cdot 10^5$ до $(2,8 \pm 1,5) \cdot 10^5$ на 100 мл рідини перитонеального змиву. Частота виявлення ІПК прогресивно знижувалася з кожним наступним проведенням МІПЛ, а після 8-го лаважу ІПК не визначалися. Дослідженням доведено, що лімфодисекція, яка неминуче призводить до розкриття просвіту лімфатичних судин, спричиняє дисемінацію життєздатних злоякісних клітин у черевну порожнину [38].

K. Yamamoto та співавт. обстежили 39 пацієнтів з РПЗ, яким проведено оперативне лікування. Пацієнтів розподілили на дві групи: контрольну ($n = 24$), в якій МІПЛ не застосовували, та основну ($n = 15$), в якій виконували МІПЛ. Визначали рівні РЕА і цитокератину-20 за допомогою ПЛР відразу після лапаротомії, лімфаденектомії і видалення резектованої ділянки ПЗ. В основній групі вияви рецидиву захворювання — перитонеальні, печінкові, лімфатичні, локальні та екстраабдомінальні — становили відповідно 6,7; 40,0; 26,7; 13,3 і 13,3 %, у контрольній групі — 45,8; 50,0; 20,8; 29,2 і 20,8 %. Результати дослідження свідчать, що частота перитонеальної дисемінації пухлинних клітин була вірогідно вищою в пацієнтів контрольної групи, в якій МІПЛ не виконували ($p = 0,013$) [25].

M. Hirota після завершення реконструктивного етапу no-touch ПДР або видалення пухлини тіла і/або хвоста ПЗ виконував МІПЛ модифікованою методикою, яку описали S. Shimada та співавт. [26] з використанням 5—10 л стерильного фізіологічного розчину для видалення дисемінованих пухлинних клітин.

На пізніх стадіях РПЗ позитивний результат цитологічного дослідження рідини перитонеальних змивів корелював з позитивними результатами цитологічного дослідження крові, що може свідчити про високу здатність пухлинних клітин проникати крізь очеревину в кров [19].

На думку M. Kuramoto та співавт., відсутність МІПЛ після виконання радикальної резекції ПЗ у хворих на РПЗ є незалежним чинником ризику появи перитонеальної дисемінації [12].

МІПЛ можна ефективно застосовувати як завершальний етап радикальних оперативних втручань на ПЗ при її злоякісному ураженні для видалення життєздатних ІПК з черевної порожнини.

Основними критеріями оцінки ефективності застосування того чи іншого методу профілактики інтраопераційної дисемінації клітин злоякісних пухлин ПЗ вважають частоту виявлення ІПК або їхніх кластерів у периферичній крові, крові системи ворітної вени, кістковому мозку, рідині перитонеальних змивів, а також частоту рецидивів пухлини, появи метастазів і рівень виживаності.

Гематогенна дисемінація ІПК при протоковому раку ПЗ належить до основних чинників, які зумовлюють низьку виживаність хворих.

Транзиторні пухлинні клітини вже наприкінці 1960-х виявляли традиційним цитологічним дослідженням у крові хворих з різними пухлинами [27].

Виявлення ІПК пов'язане з низкою технічних складнощів через значну кількість клітин, які оточують поодинокі пухлинні клітини, що зумовлює появу хибнопозитивних та хибнонегативних результатів.

Для визначення ІПК у кров'яному руслі використовують такі методи, як ПЛР, імуноцитологічний, імуноцитохімічний/імуногістохімічний, проточна цитометрія, метод тканинних культур. Ці методики дають змогу виявити 1 пухлинну клітину, що циркулює в крові, на 1 млн еритроцитів або клітин кісткового мозку [1].

Для імуногістохімічного дослідження характерні висока чутливість та специфічність, які зумовлені застосуванням певної комбінації антитіл. Метод дає змогу виявити одну пухлинну клітину, що циркулює в крові, на 10^6 звичайних клітин [39]. Імуноцитологічний метод чутливіший, ніж звичайний цитологічний метод. Його можна ефективно застосовувати для виявлення мікрометастазів у кістковому мозку [35], ІПК у рідині перитонеальних змивів [34] у хворих на РПЗ. Імуноцитохімічне дослідження можна виконувати із застосуванням таких моноклональних антитіл: МКА НЕА 125 до антигену Egr 34, панцитокератинів (KL-1), антитіла до цитокератинів (СК-18, СК-19), PEA, C1P83, CA-19-9, C-54-0, 17-1-A, Ra-96 [24].

ПЛР зі зворотною транскриптазою, що виявляє мРНК гена-маркера, може бути в 10 разів чутливішим методом, ніж імуногістохімічний, але зали-

шається дорогим методом діагностики, який потребує певного оснащення [55]. Імуногістохімічний метод та ПЛР можуть давати хибнопозитивні результати внаслідок перехресної реактивності з компонентами мікрооточення пухлинних клітин, наявності в крові доброякісних епітеліальних клітин і залишків пухлинних клітин у макрофагах. Хибнонегативні результати також можливі через відмінності методик виділення клітин [6].

Необхідна стандартизація методик, які застосовують на цей час для виявлення ІПК, пошук більш специфічних антитіл та їхніх комбінацій з метою підвищення чутливості імунологічних методик, більш точних методів молекулярної діагностики.

ВИСНОВКИ

Незважаючи на значний прогрес у розробці методів діагностики останніми десятиліттями, частота виявлення хворих з резектабельними формами раку підшлункової залози, яким вдається виконати радикальне оперативне втручання, залишається вкрай низькою (в середньому від 10 до 20 %). При цьому 5-річний рівень виживаності долають лише 4–5 % радикально прооперованих хворих з раком підшлункової залози, що пов'язано з локорегіонарними рецидивами захворювання, появою метастазів, перитонеальною дисемінацією.

Ефективних методів профілактики дисемінації клітин злоякісних пухлин підшлункової залози не розроблено.

Перспективним напрямом профілактики інтраопераційної дисемінації злоякісних клітин можна вважати криофіксацію пухлин підшлункової залози.

Література

1. Влияние циркуляции опухолевых клеток в крови на прогноз при операциях на печени по поводу злокачественных опухолей / Ю.И. Патютко, Н.Н. Тупицын, И.В. Сагайдак [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.— 2011.— № 6.— С. 22–26.
2. Губенко В.А. Адьювантная терапия злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта / В.А. Губенко, Р.В. Орлова // Практическая онкология.— 2007.— Т. 8, № 3.— С. 127–133.
3. Данилов М.В. Хирургия поджелудочной железы: руководство [для врачей] / М.В. Данилов, В.Д. Федоров.— М.: Медицина, 1995.— 512 с.
4. Использование криооздействия для повышения эффективности хирургического лечения рака поджелудочной железы (Доклад) [Электронный ресурс] / М.Д. Ханевич, Г.М. Манихас, С.М. Вашкуров [и др.] // Заседание общества им. Н.И. Пирогова СПбГМУ им. И.П. Павлова № 2373.— 2011.— Режим доступа: <http://grekoclinic.ru/?mdlname=text-page&pageNamePart=2373pirogovmeting>
5. Литвиненко О.О. Криохірургічні методи лікування захворювань пухлинного генезу органів гепатопанкреатодуоденальної зони: Автореф. дис. ...д-ра мед. наук: спец. 14.00.27 «Хірургія» / О.О. Литвиненко.— К., 1994.— 41 с.
6. Лядов В.К. Прогностические факторы при резектабельном раке поджелудочной железы / В.К. Лядов, Й.-М. Лер, Оке Андерсен-Сандберг.— М.: ИД «Медпрактика-М», 2010.— 148 с.
7. Новые хирургические технологии в лечении злокачественных опухолей поджелудочной железы и периапулярной зоны / В.М. Копчак, И.В. Хом'як, К.В. Копчак [и др.] // Укр. журн. хірургії.— 2011.— № 5.— С. 76–82.
8. Основи кріохірургії / Г.В. Бондар, В.Г. Бідний, Я.В. Жарков [та ін.]— К.: Принт-Експрес, 2005.— 175 с.
9. Патютко Ю.И. Хирургия рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны (Руководство для врачей) / Ю.И. Патютко, А.Г. Котельников.— М.: Медицина, 2007.— 448 с.
10. Рак в Україні, 2009—2010. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З.П. Федоренко, А.В. Гайсенко, Л.О. Гулак [та ін.]; за ред. проф. І.Б. Щепотіна.— К.: Бюл. Нац. канцер-реєстру України.— 2011.— № 12.— 116 с.
11. Расширенная гастропанкреатодуоденальная резекция / Ю.И. Патютко, А.Г. Котельников, М.М. Михайлов, В.Ю. Косырев.— 2000.— <http://www.rosoncology.ru/library/2000/004.php>
12. A proposal of a practical and optimal prophylactic strategy for peritoneal recurrence — randomized controlled trials / M. Kuramoto, S. Shimada, S. Ikeshima [et al.] // Ann. Surg.— 2009.— Vol. 250, N 2.— P. 242–246.
13. Abati A. Looking forward in diagnostic pathology: The molecular superhighway / A. Abati, L. A. Liotta // Cancer.— 1996.— Vol. 78.— P. 1–3.
14. Adjuvant 5-FU-based chemoradiotherapy for patients undergoing R-1/R-2 resections for pancreatic cancer / H.G. Smeenk, L. Incrocci, G. Kazemier [et al.] // Dig. Surg.— 2005.— Vol. 22, N 5.— P. 321–328.

15. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine in respectable pancreatic cancer / H. Oettle, S. Post, P. Neuhaus [et al.] // *JAMA*.— 2007.— Vol. 297, N 3.— P. 267—277.
16. Adjuvant therapy of pancreatic cancer / C. Sharma, D. Horowitz, J. Chabot, M. W. Saif // *JOP*.— 2011.— Vol. 12, N 4.— P. 343—346.
17. Adopting extensive intra-operative peritoneal lavage (EIPL) as the standard prophylactic strategy for peritoneal recurrence / S. Shimada, M. Kuramoto, T. Marutsuka [et al.] // *Reviews on Recent Clinical Trials*.— 2011.— Vol. 6, N 3.— P. 266—270.
18. American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2010. Atlanta: American Cancer Society; 2010.
19. Biological implications of tumor cells in blood and bone marrow of pancreatic cancer patients / K. Z'raggen, B.A. Centeno, C. Fernandez-del Castillo [et al.] // *Surgery*.— 2001.— Vol. 129, N 5.— P. 537—546.
20. Classification of isolated tumor cells and micrometastases / P. Hermanek, R.V.P. Hutter, L.H. Sobin, C. Wittekind // *Cancer*.— 1999.— Vol. 86.— P. 2668—2673.
21. CT diagnosis of recurrence after pancreatic cancer: Is there a pattern? / T. Heye, N. Zausig, M. Klaus [et al.] // *World J. Gastroenterol.*— 2011.— Vol. 17, N 9.— P. 1126—1134.
22. Curative resection is the single most important factor determining outcome in patients with pancreatic adenocarcinoma / M. Wagner, C. Redaelli, M. Lietz [et al.] // *Br. J. Surg.*— Vol. 91, N 5.— P. 586—594.
23. Disseminated tumor cells in pancreatic cancer — an independent prognosticator of disease progression and survival / K.E. Effenberger, C. Schroeder, C. Eulenburg et al. // *Int. J. Cancer*.— 2011.— doi: 10.1002/ijc.26439.
24. Disseminated tumor cells in pancreatic cancer patients detected by immunocytology: a new prognostic factor / I. Vogel, U. Kruger, J. Marxsen [et al.] // *Clin. Cancer Res.*— 1999.— Vol. 5.— P. 593—599.
25. EIPL (extensive intraoperative peritoneal lavage) therapy significantly reduces peritoneal recurrence after pancreatectomy in patients with pancreatic cancer / K. Yamamoto, S. Shimada, M. Hirota [et al.] // *Int. J. Oncol.*— 2005.— Vol. 27, N 5.— P. 1321—1328.
26. Extensive intraoperative peritoneal lavage and chemotherapy for gastric cancer patients with peritoneal free cancer cells / S. Shimada, E. Tanaka, T. Marutsuka [et al.] // *Gastric Cancer*.— 2002.— N 5.— P. 168—172.
27. Factors affecting the finding of cancer cells in the blood / R.A. Sellwood, S.W.A. Kuper, P.M. Payne, J.I. Burn // *Br. J. Surg.*— 1969.— Vol. 56.— P. 649—652.
28. Favoulet P. Abdominal lavage for peritoneal cancer cell seeding prevention / P. Favoulet, L. Benoit, J.P. Favre // *Ann. Chir.*— 2003.— Vol. 128, N 9.— P. 590—593.
29. Folkman J. What is the evidence that tumours are angiogenesis dependent? / J. Folkman // *J. Natl. Cancer Inst.*— 1990.— Vol. 82.— P. 4—6.
30. Future of cancer incidence in the United States / B.D. Smith, G.L. Smith, A. Hurria [et al.] // *Burdens Upon an Aging, Changing Nation. J. Clin. Oncol.*— 2009.— Vol. 27, N 17.— P. 2745—2746.
31. Hirota M. Pancreatectomy using the no-touch isolation technique followed by extensive intraoperative peritoneal lavage to prevent cancer cell dissemination: a pilot study / M. Hirota, S. Shimada, K. Yamamoto [et al.] // *JOP*.— 2005.— Vol. 6, N 2.— P. 143—151.
32. Hirota M. Pancreatoduodenectomy using no-touch isolation technique / M. Hirota, M. Ogawa // *Shujutsu*.— 2001.— Vol. 55.— P. 209—215.
33. Identification of prognostic factors in pancreatic cancer / J. Ruiz-Tovar, E. Martin-Perez, M. E. Fernandez-Contreras, M.E. Reguero-Callejas [et al.] // *Cir.*— 2011.— Vol. 79, N 79.— P. 313—322.
34. Immunocytological detection of micrometastatic cells: comparative evaluation of findings in the peritoneal cavity and in the bone marrow of gastric, colorectal and pancreatic cancer patients / H. Juhl, M. Stritzel, A. Wroblewski [et al.] // *Int. J. Cancer*.— 1994.— Vol. 57.— P. 330—335.
35. Kloppel G. Pancreatic non-endocrine tumors // *Pancreatic pathology* / Ed. by G. Kloppel, P.U. Heitz.— Edinburg: Churchill Livingstone, 1984.— P. 79—113.
36. Kobayashi S. A proposal of no-touch isolation technique in pancreatoduodenectomy for periampullary carcinomas / S. Kobayashi, T. Asano, T. Ochiai // *Hepatogastroenterology*.— 2001.— Vol. 48.— P. 372—374.
37. Laparoscopic peritoneal lavage cytology and immunocytology in pancreatic and periampullary carcinoma / M.J. Midwinter, A. Watson, V. Wadhehra, R.M. Charnley // *HPB (Oxford)*.— 2001.— Vol. 3, N 3.— P. 207—211.
38. Mechanisms of peritoneal metastasis after operation for non-serosa-invasive gastric carcinoma: an ultrarapid detection system for intraperitoneal free cancer cells and a prophylactic strategy for peritoneal metastasis / T. Marutsuka, S. Shimada, K. Shiomori [et al.] // *Clin. Cancer Res.*— 2003.— Vol. 9, N 2.— P. 678—685.
39. Methodological analysis of immunocytochemical screening for disseminated epithelial tumor cells in bone marrow / K. Pantel, G. Schlimok, M. Angstwurm, D. Weckermann [et al.] // *J. Hematother.*— 1994.— Vol. 3.— P. 165—173.
40. Nagai H. Configurational anatomy of the pancreas: it is surgical relevance from ontogenetic and comparative-anatomical viewpoints / H. Nagai // *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*— 2003.— Vol. 10, N 1.— P. 48—56.
41. Nakao A. Isolated pancreatectomy for pancreatic head carcinoma using catheter bypass of the portal vein / A. Nakao, H. Takagi // *Hepatogastroenterology*.— 1993.— Vol. 40.— P. 426—429.
42. Ohigashi H. Early ligation of the inferior pancreaticoduodenal artery to reduce blood loss during pancreaticoduodenectomy / H. Ohigashi, O. Ishikawa, H. Eguchi [et al.] // *Hepatogastroenterology*.— 2004.— Vol. 51, N 55.— P. 4—5.
43. Pancreatic cancer / A. Vincent, J. Herman, R. Schulick [et al.] // *Lancet*.— 2011.— Vol. 378.— P. 607—620.
44. Pancreatic Cancer Action 2011 UK Pancreatic Cancer Statistics 2011.— P. Overview <http://pancreaticcanceraction.org/wp-content/uploads/2010/05/UK-Pancreatic-Cancer-Statistics-2011.pdf>
45. Pancreatoduodenectomy using a no-touch isolation technique / M. Hirota, K. Kanemitsu, H. Takamori [et al.] // *Am. J. Surg.*— 2010.— Vol. 199, N 5.— P. 65—68.
46. Paul H. Intraoperative gemcitabine chemotherapy treatment for patients with resected pancreatic cancer, rationale and report of early data / H.P. Sugarbaker, O.A. Stuart, L. Bijelic // *Int. J. Surgical Oncol.*— 2011.— P. 1—7.— Article ID 161862, doi:10.1155/2011/161862.
47. Perioperative cancer cell dissemination detected with a real-time RT-PCR assay for EpCAM is not associated with worse prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma / G. Sergeant, T. Roskams, J. van Pelt [et al.] // *BMC Cancer*.— 2011.— Vol. 11.— P. 47.
48. Preoperative paclitaxel and concurrent rapid — fractionation radiation for resectable pancreatic adenocarcinoma: toxicities, histologic response rates, and event-free outcome / W.T. Pisters, R.A. Wolff, N.A. Janjan [et al.] // *J. Clin. Oncol.*— 2002.— Vol. 20, N 10.— P. 2537—2544.
49. Preoperative treatment of potentially-resectable pancreatic adenocarcinoma with fixed-dose rate gemcitabine (GEM), bevacizumab (BEV), and 30 Gy radiotherapy (RT) / A.J. Moser, H.J. Zeh, R.K. Ramanathan [et al.] // *J. Clin. Oncol.*— 2008.— N 26.
50. Role of cancer stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma / G. Sergeant, H. Vankelecom, L. Gremeaux, B. Topal // *Nat. Rev. Clin. Oncol.*— 2009.— Vol. 6.— P. 580—586.
51. Saif M.W. Adjuvant Therapy of Pancreatic Cancer: Beyond Gemcitabine (Highlights from the «2011 ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium». San Francisco, CA, USA. January 20—22, 2011) / M.W. Saif // *JOP*.— 2011.— Vol. 12, N 2.— P. 106—109.
52. Saif M.W. Pancreatic neoplasm in 2011: an update / M.W. Saif // *JOP*.— 2011.— Vol. 12, N 4.— P. 316—321.
53. Sobin L.H. TNM.— 6th edition: new developments in general concepts and rules / L.H. Sobin // *Semin Surg. Oncol.*— 2003.— Vol. 21, N 1.— P. 19—22.
54. Su D. The characteristics of disseminated tumor cells in pancreatic cancer: a black box needs to be explored / D. Su, K. Yamaguchi, M. Tanaka // *Pancreatol.*— 2005.— Vol. 5.— N (4—5).— P. 316—324.
55. The detection of micrometastases in the peripheral blood and bone marrow of patients with breast cancer using immunohistochemistry and polymerase chain reaction for keratin 19 / A. Schoenfeld, K.H. Kruger, J.J. Gomm [et al.] // *Eur. J. Cancer*.— 1997.— Vol. 33.— P. 854—861.
56. Van den Broeck A. Patterns of recurrence after curative resection of pancreatic ductal adenocarcinoma / A. Van den Broeck, G. Sergeant, N. Ectors // *Eur. J. Surg. Oncol.*— 2009.— Vol. 35.— P. 600—604.
57. Warshaw A.L. Pancreatic carcinoma / A.L. Warshaw, C. Fernandez-del Castillo // *N. Engl. J. Med.*— 1992.— Vol. 326, N 7.— P. 455—465.
58. Wicha M.S. Cancer stem cells: an old idea — a paradigm shift / M.S. Wicha, S. Liu, G. Dontu // *Cancer Res.*— 2006.— Vol. 66, N 4.— P. 1883—1890.

А.И. Дронов, Е.А. Крючина, Д.И. Хоменко, А.И. Горлач,
Д.И. Любенко, Р.Д. Добуш, Е.С. Козачук

ПРОФИЛАКТИКА ДИССЕМИНАЦИИ КЛЕТОК ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Неудовлетворительные результаты комплексного лечения больных с резектабельным раком поджелудочной железы связаны, по мнению ученых, с интраоперационной диссеминацией опухолевых клеток. Проанализированы методы профилактики диссеминации клеток злокачественных опухолей поджелудочной железы: криофиксация опухоли, сосудистая изоляция, массивный интраоперационный перитонеальный лаваж. Рассмотрены методы диагностики изолированных опухолевых клеток и перспективы поиска методов улучшения выживаемости больных с раком поджелудочной железы.

Ключевые слова: сосудистая изоляция опухоли, изолированные опухолевые клетки, микрометастазы, криофиксация опухоли, массивный интраоперационный перитонеальный лаваж.

O.I. Dronov, Ye.A. Kriuchina, D.I. Khomenko, A.I. Gorlach,
D.I. Liubenko, R.D. Dobush, Ye.S. Kozachuk

CELLS DISSEMINATION PREVENTION IN MALIGNANT TUMORS OF THE PANCREAS

Unsatisfactory treatment results in patients with resectable pancreatic cancer are related, according to scientists, with intraoperative tumour dissemination cells. The prevention methods for pancreatic tumour cells dissemination: tumour cryofixation, vascular isolation, massive intraoperative peritoneal lavage were analysed. The diagnostic methods for isolated tumour cells and the prospects for finding methods to improve survival in patients with pancreatic cancer were considered.

Key words: vascular isolation of the tumour, isolated tumour cells, micro-metastases, cryofixation of the tumour, massive intraoperative peritoneal lavage.