

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ПОКАЗАНИЯ К ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ И МУЛЬТИФОКАЛЬНОЙ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМОЙ В СТАДИИ T2-3N0M0, BCLC-B

Штурич И.П., Лёвина Д.И., Щерба А.Е.

*ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и
гематологии»*

Цель работы. Разработать и внедрить метод прогнозирования эффективности и показания к трансплантации печени (ТП) у пациентов с циррозом и мультифокальной гепатоцеллюлярной карциномой в стадии T2-3N0M0, BCLC-B с целью снижения частоты рецидива и прогрессирования гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и увеличения продолжительности безрецидивной выживаемости.

Гипотеза исследования состоит в том, что если неблагоприятный онкологический прогноз такого пациента в конечном итоге определяется 1. наличием микрометастазов на момент ТП, и 2. риском возникновения микрометастазов после ТП, то риск наличия микрометастазирования на момент ТП можно прогнозировать по известными суррогатным маркерами биологии опухоли, которыми являются avidность к 18-ФДГ и SUV при ПЭТ, молекулярно-генетические (мутации гена TP53 и CTNNB1), кривая динамики значения АФП перед ТП и степень дифференцировки; а риск возникновения микрометастазов после ТП - по наличию циркулирующих опухолевых клеток.

Материалы и методы. Объектом исследования являются 23 пациента с ГЦК вне Миланских и UCSF критериев трансплантации печени, диагностированной по данным компьютерной томографии (КТ) и/или биопсии опухоли, без признаков метастазирования и опухолевого поражения регионарных лимфатических узлов и без макрососудистой инвазии (первого порядка ветвей воротной вены, основных стволов печеночных вен) и суммарным диаметром узлов 10 и более сантиметров (стадии T2-3N0M0, BCLC-B). Исследование состоит из нескольких этапов. Первый – серологические исследования с определением концентрации в плазме крови альфа-фетопротейна (АФП), protein induced by vitamin K absence (PIVKA-II), инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), определение концентрации циркулирующих опухолевых клеток в крови (ЦОК), выполнение позитронно-эмиссионной томографии и компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) с 18-фтордезоксиглюкозой, биопсия опухоли с определением наличия экспрессии β -catenin, p53, CD8+Т-лимфоцитов и митогенного индекса Ki67 по данным иммуногистохимического исследования биоптата, определение мутации гена TP53 и CTNNB1 из биопсийного материала. Второй – выполнение химиоэмболизации ветвей печеночной артерии (ХЭПА) с целью понижения стадии или «моста» к трансплантации печени с оценкой эффективности через

1-3 месяца. При отсутствии прогрессирования ГЦК в печени, признаков метастазирования и опухолевого поражения регионарных лимфатических узлов, макрососудистой инвазии (первого и второго порядка ветвей воротной вены, основных стволов печеночных вен) – пациентам выполняется ортотопическая трансплантация печени. После выполнения ортотопической трансплантации печени пациентам определяется уровень серологических маркеров, циркулирующих опухолевых клеток через 1 месяц после операции и далее КТ-исследования каждые 3 месяца. Диагностика рецидива ГЦК осуществляется по данным КТ и/или ПЭТ-КТ и/или биопсии опухоли.

Сформированы две группы пациентов – группа 0 (отрицательный клинический исход: морфологическое прогрессирование после ХЭПА по данным МСКТа; серологическое – повышение уровня АФП; цитологическое – появление или повышение уровня ЦОК) и группа 1 – (положительный клинический исход: положительный результат оценки методом КТ ответа на локорегионарную терапию; снижение уровня АФП; снижение уровня ЦОК). Группа 0 составила 8 пациентов, группа 1 – 9 пациентов.

Результаты и обсуждение.

Оценка КТ-паттернов.

Для поиска прогностически неблагоприятных признаков были проанализированы все переменные паттерны ГЦК. В группах клинического исхода не было выявлено статистически достоверного отличия проанализированных КТ-паттернов узлов ГЦК: усиливающаяся в отсроченную фазу контрастирования капсула ($p=0,6$), нечеткость контуров ($p=0,51$), артериальное усиление ($p=0,8$), «вымывание» контрастного препарата опухолью в отсроченную фазу контрастирования ($p=0,61$), «узел в узле» ($p=0,17$), некроз в опухолевом узле ($p=0,69$), жир в структуре узла или обызвествление.

Медиана количества узлов ГЦК в группе 0 составила 4 (3;10) и статистически достоверно не отличалась ($p=0,13$) от таковой в группе 1 – 2,8 (1;4). Не было выявлено статистически достоверного отличия ($p=0,27$) медианы суммарного диаметра узлов ГЦК в группе 0, которая составила 100 (75;250) мм в сравнении с группой 1, в который показатель составил 77 (63;115) мм.

Оценка ответа на ХЭПА в группах клинического исхода.

В группе 0 полного ответа на ХЭПА по данным КТ не было. Неполный ответ был выявлен в 4 случаях, отсутствие ответа – в одном. В группе 1 полный ответ на ХЭПА по данным был выявлен в 2 случаях, неполный – в 5, отсутствовал ответ в одном случае.

В группе 0 медиана количества сеансов ХЭПА составила – 4, в группе 1 – 1, что явилось статистически достоверным различием между группами клинического исхода ($p=0,013$).

Анализ уровня АФП.

На первичном этапе медиана уровня АФП в группе 0 составила 121,5 (32;2418) нг/мл, в группе 1 – 7,95 (6;122) нг/мл, статистически значимого

отличия между выявленным уровнями в группах клинического исхода не было ($p=0,18$).

Медиана уровня АФП на этапе после выполнения ХЭПА в группе 0 составила 184 (168;331) нг/мл, что является заметным ростом, в группе 1 – 8,95 (4;323) нг/мл, однако статистически значимого различия между группами не выявлено ($p=0,34$).

Анализ изменения уровня ЦОК.

На этапе оценки уровня ЦОК до проведения ХЭПА не было выявлено статистически достоверного отличия ($p=0,61$) в группе 0 – 0,0002 (0;0,0125)% и группе 1 – 0,0019 (0,0003;0,004)%. Однако определялось статистически достоверное снижение уровня ЦОК у всех пациентов после выполнения ХЭПА ($p=0,047$).

Анализ уровня серологических маркеров.

При оценке уровня серологических маркеров (PIVKA II, IGF-1, VEGF) после выполнения ХЭПА был выявлен рост уровней PIVKA II (с 14 (9;16,5) до 16,8 (14,5;52,6)), VEGF (с 76,5 (54,4;164;8) до 95,7 (68;149)), незначительное снижение IGF-1 (с 1,69 (1,41;2,35) до 1,45 (0,91;2,82)) без статистической значимости, вероятно, вследствие наибольшего вклада группы 0, т.к. большая часть пациентов группы 1 ещё этап анализа серологических показателей после ХЭПА не прошли.

При анализе уровня серологических маркеров (PIVKA II, IGF-1, VEGF) в группах композитного клинического исхода до выполнения ХЭПА было выявлено заметно более низкое значение показателей в группе 1 (PIVKA II – 12,75 (8,8;15,3), IGF-1 – 1,67 (1,29;2,96), VEGF – 73,9 (49,7;164,3), но без статистически достоверного различия вышеуказанных показателей.

Анализ иммуногистохимического исследования биоптата ГЦК.

Проведено иммуногистохимическое исследование шести трепан-биоптатов печени пациентов с мультифокальным ростом ГЦК.

Положительная экспрессия белка p53 выявлена в двух случаях у пациентов группы 0, β -катенина – в одном из проведенных исследований в группе 0. При определении экспрессии CD8+ Т-лимфоцитов отмечается более низкое содержание CD8+ клеток в опухолевой ткани по сравнению с окружающей паренхимой печени во всех проведенных исследованиях. В трех из шести случаев CD8+Т-лимфоциты в опухолевой ткани не определялись в пределах исследованного материала.

Анализ генетического исследования биоптата ГЦК.

С использованием метода ПЦР-ПДРФ был проведен скрининг 12 образцов биологического материала пациентов для детекции однонуклеотидного полиморфизма (SNP) R249S в гене *TP53*, экзон 7 (AGG →AGT). В исследованных образцах полиморфизм R249S в гене *TP53*, экзон 7 не выявлен.

С использованием метода секвенирования по Сэнгеру был проведен скрининг образцов 2L, 3L, 4L, 5L, 8L, 11L, 12L в экзоне 3 гена β -катенина (*CTNNB1*) для детекции возможных полиморфных вариантов в «hotspots»

точковых мутаций. В результате проведения скрининга был выявлен однонуклеотидный полиморфизм (SNP) САТ→ССТ (М) в образце 11L в кодоне Н36. Выявлено, что в группе 1 (5 пациентов) не было выявлено полиморфизмов, связанных с ГЦК в генах TP53 и CTNNB1.

Таким образом, получено статистически значимое отличие количества сеансов ЛРТ (ХЭПА), 4 в группе неблагоприятного клинического исхода против 1 (Fisher test, $p=0,013$), учитывая цель ЛРТ-терапии, направленную на достижение более чем 60% деконтрастирования опухоли по mRECIST и более чем 50% снижение АФП и менее 400 нг/мл. Получена очевидная тенденция к:

1. снижению серологических показателей в группах сравнения после проведения локорегионарной терапии и большим медианам значений исходных АФП, 122 [31,7;2417] нг/мл у пациентов группы неблагоприятного клинического исхода (прогрессирование в ожидании или рецидив после трансплантации печени) в сравнении с благоприятным, 7 [5,2;133] нг/мл.;

2. связи количества узлов и суммарного диаметра ГЦР с кривыми ответа АФП – непрерывно прогрессирующей и прогрессирующей после снижения;

3. связи количества ЦОК с непрерывно прогрессирующей кривой ответа АФП;

4. связи концентрации IGF с непрерывно прогрессирующей и прогрессирующей после снижения кривыми ответа АФП.

Не получены на данном этапе исследования связь с VEGF и КТ-паттернами.

На основании полученных результатов перечень показаний к трансплантации печени у пациентов с ГЦК в стадии T2-3N0M0, BCLC-B включает:

1. Отсутствие прогрессирования в течение 6 месяцев от момента включения в протокол обследования.

2. Некроз (деконтрастирование) не менее 60% узла ГЦК.

3. Снижение уровня АФП не менее чем на 50%.

4. Снижение уровня либо отсутствие ЦОК.

Выводы. Полученные данные подтверждают правильность направления исследования и гипотезы, что несмотря на недостаточность мощности исследования и количества наблюдений на данном этапе подтверждено неоднородностью показателей серологических, молекулярно-генетических, ИГХ, ЦОК в зависимости от клинического исхода, количества сеансов ЛРТ и кривой АФП.