

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ**

БУРЛАКА АНТОН АНАТОЛІЙОВИЧ

УДК 616.345 + 616.351 + 616.36] – 006.6 – 033.2 – 085 – 037.4 – 037.6 – 036.8

**МЕТАБОЛІЧНІ ТА СТРОМАЛЬНІ ПРЕДИКТОРИ МЕТАСТАТИЧНОГО
КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКУ ІЗ МЕТАХРОННИМ УРАЖЕННЯМ
ПЕЧІНКИ: КОНТРОЛЬ РАННЬОГО ПРОГРЕСУВАННЯ,
ОБҐРУНТУВАННЯ МЕТОДОЛОГІЇ КОМБІНОВАНОГО ЛІКУВАННЯ**

14.01.07 – онкологія

АТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному інституті раку МОЗ України

Науковий консультант доктор медичних наук
Колеснік Олена Олександрівна,
Національний інститут раку МОЗ України,
головний науковий співробітник
науково-дослідного відділення
пухлин органів черевної порожнини

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Земсков Сергій Володимирович,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця,
проректор з наукової роботи та інновацій

доктор медичних наук, професор
Фецич Тарас Григорович,
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького,
завідувач кафедри онкології і радіології ФПДО

член-кореспондент НАМН України,
доктор медичних наук, професор
Ничитайло Михайло Юхимович,
Національний інститут хірургії та
трансплантології імені О.О. Шалімова
НАМН України,
головний науковий співробітник відділу хірургії
підшлункової залози, лапароскопічної та
реконструктивної хірургії жовчовивідних проток

Захист відбудеться «3» березня 2021 року о 13 год 00 хв
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.560.01
при Національному інституті раку
(03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці
Національного інституту раку (03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43).

Автореферат розісланий «1» лютого 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат медичних наук

Г. В. Лаврик

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. В світі щороку діагностують близько 1,8 млн нових випадків захворювання на колоректальний рак (КРР) (A.N. Archambault et al., 2020). Згідно з даними Національного канцер-реєстру України, рак ободової та прямої кишки входить у четвірку найчастіше діагностованих злоякісних новоутворень, що складає щорічно майже 16,7 тис. хворих серед дорослого населення (З.П. Федоренко та співавт., 2020). За період анамнезу хвороби $\geq 50\%$ хворих КРР діагностують метастатичне ураження печінки (M.F. Kaminski et al., 2020).

Так, наприкінці 1990-х рр. наявність > 4 вогнищ КРР в печінці вважали протипоказом до резекції, оскільки очікувана виживаність не перевищить 3 років. Однак, розвиток сучасних технологій комп'ютерної (КТ), магнітно-резонансної томографії (МРТ) та ультразвукової діагностики (УЗД), поглиблення знань варіативної анатомії та фізіології печінки, вдосконалення анестезіологічних технологій потенціювали активне застосування більш екстремальних підходів у хірургії печінки. Наразі, можливість збереження адекватного об'єму паренхіми ($\geq 30\%$ за відсутності цирозу) для виживання хворого вважається головним критерієм резектабельності (Th. Chapelle et al., 2016). Разом з тим, видалення первинної пухлини та сайтів, уражених метастатичною хворобою, із подальшим системним протипухлинним лікуванням, залишається пріоритетним для виживаності таких хворих (М.Ю. Ничитайло та співавт., 2018; О.О. Колеснік та співавт., 2018).

Водночас відсутні чіткі рекомендації щодо застосування ширини краю відступу від метастатичних вогнищ КРР при трансекції паренхіми (D. Xu et al., 2019; L. Solaini et al., 2019). Загальноприйнята тактика (ширина відступу від краю метастазу ≥ 1 см та анатомічно-орієнтовані резекції) в більшості випадків спричиняє високий рівень тяжких ускладнень, зокрема гострої печінкової недостатності (ГПН) в ранньому післяопераційному періоді (16 %) та синдрому малої печінки (31 %) у пізніших термінах (G.E. Riddiough et al., 2019). Втім, світова статистика демонструє, що у 60 % оперованих хворих впродовж перших 5 років виникає повторне метастатичне ураження печінки, що потребує ререзекції (P.E. Serrano et al., 2019). Однак, хірургічна стратегія із використанням анатомічно-орієнтованих операцій, що здебільшого реалізується через великі резекції печінки (двоетапні стратегії із штучною стимуляцією гіпертрофії), не дозволяє застосувати повторне хірургічне лікування внаслідок браку паренхіми печінки вже оперованих хворих (R. Adam et al., 2016; Т.Г. Фецич та співавт., 2016). З поглибленням розуміння біології метастазування, низка спеціалізованих хірургічних центрів почали відстоювати хірургічну тактику збереження паренхіми печінки, яка передбачала відступ від краю метастазу 1 мм, що вивчається донині (С.В. Земсков та співавт., 2014; L. Viganò et al., 2018). Окремі клінічні дослідження довели онкологічну ефективність хірургічної стратегії, що передбачає скелетизацію магістральних печінкових вен та глісонових структур (1–3 порядку) при пухлинному контакті, що забезпечує статус краю R1v (G. Torzilli et al., 2020).

Початково принцип збереження паренхіми печінки *cherry picking* пропагували тільки для множинних периферично (S2, S3) та субкапсульно локалізованих метастатичних вогнищ (M. Krausch et al., 2014). Вважається, що адаптація паренхімозберігаючої хірургії (ПЗХ) у хворих на КРР несе потенціал персоніфікувати хірургічний метод. Однак, залишаються невивченими онкологічні та хірургічні результати ПЗХ при локалізації метастатичних утворень у центральних сайтах печінки (ЦСП) стосовно хірургічної анатомії органа (праве венозне ядро, порталні та кавальні ворота печінки, дорсальна частина S1, глибокі зони паренхіми S4).

Світовий досвід хірургії печінки останніх трьох десятиліть демонструє наявність проблеми, що негативно впливає на виживаність оперованих хворих (Н.Н. Brandt et al., 2016; С. Lim et al., 2014). Хірургічний стрес вважають вагомим фактором, здатним потенціювати процеси стерильного запалення та прискорювати ріст прихованих мікрометастазів резидуальної метастатичної хвороби (J. Hiller et al., 2018). Активація молекулярних шляхів проліферації клітинних елементів тканини печінки (процес регенерації внаслідок розширеної резекції чи емболізація порталної вени з метою стимуляції гіпертрофії також можуть призводити до посилення швидкості подальшого метастазування та росту пухлини (Е.К. Abdalla et al., 2008; Т. Senoner et al., 2019). Показано, що розширені (великі) резекції печінки супроводжуються ризиком ініціації неконтрольованого пухлинного росту внаслідок активації процесів регенерації (G.A. Margonis et al., 2017; Y. Zhang et al., 2019). Патологічний ефект ішемії-реперфузії (ІПР), що супроводжує більшість резекцій печінки, може призводити до активації деструктивних каскадів молекулярних реакцій, медіаторами яких виступають супероксидні радикали (СР), генеровані під час реперфузії із молекул O_2 до ішемізованих тканин печінки (М.В. Jiménez-Castro et al., 2019). Причини та молекулярні механізми індукування спокою клітин аденокарциноми маловивчені, однак доведено, що ініціація процесів росту та прогресування регулюються через зміни редокс-статусу та генерування СР в мітохондріях клітин пухлини та імунної системи (Н. Sies et al., 2020; S. Tohme et al., 2017).

Крім того, окисно-індуковані мутації, у поєднанні із модифікованими окислювально-відновлювальними шляхами, контролюють патологічні події всередині пухлинних клітин, що призводять до стійкості до стресових і апоптичних сигналів, посилення розповсюдження та неефективних механізмів відновлення (С. Schwarz et al., 2016). Саме тому дослідження методів попередження та корегування негативного онкологічного ефекту хірургічних маніпуляцій на редокс-статус *in vivo* та в клініці дозволить покращити безпосередні та віддалені результати лікування хворих на КРР.

Узагальнення наведених фактів свідчить, що розробка та адаптація ПЗХ для ЦСП та комплексне дослідження редокс-предикторів пухлинного прогресування в оперованій печінці є актуальною проблемою сучасної онкології, що обґрунтовує науковий напрям даного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом планових НДР Національного інституту раку «Розробити методи хірургічного та ад'ювантного лікування хворих на злоякісні пухлини органів черевної порожнини» (номер державної реєстрації 0115U000810, шифр ВН.14.01.07.160-15; 2015–2017 рр.) та «Розроблення нових методів комбінованого лікування хворих із метастатичними новоутвореннями черевної порожнини, заочеревинного простору та малого таза» (номер державної реєстрації 0118U003734, шифр ВН.14.01.07.140-12; 2018–2020 рр.).

Мета дослідження: поліпшити безпосередні та віддалені результати лікування у хворих на колоректальний рак з метастатичним ураженням печінки шляхом використання паренхімозберігаючої хірургічної стратегії та дослідження редокс-залежних предикторів раннього прогресування.

Завдання дослідження:

1. Дослідити вплив патологічного ефекту ішемії-реперфузії на здорову тканину печінки шляхом оцінки маркерів редокс-гомеостазу та окисно-індукованих мутацій, а також оцінити сучасні можливості їх корекції (експериментальна модель *in vivo*).

2. Виконати порівняльний аналіз результатів анатомічно-орієнтованих та атипових резекцій печінки при метастатичному ураженні колоректальним раком в рамках ретроспективного дослідження.

3. Розробити та адаптувати принципи паренхімозберігаючої хірургії при метастазах у центральних сайтах печінки (метастатичні вогнища, що локалізовані переважно в межах правого венозного ядра печінки, портального та кавального конфлюенсу, паракавальної та каудальної частини S1, глибоких зонах S4, S5, S8), у тому числі при білобарному метастатичному ураженні, оцінити безпосередні та віддалені результати методу в рамках проспективного когортного дослідження.

4. Оцінити функціональний стан гепатоцитів у прилеглий та віддаленій паренхімі щодо строми метастатичного вогнища шляхом застосування електронного парамагнітного резонансу, спектроскопії та зимографії у хворих на колоректальний рак.

5. Вивчити прогностичне значення рівнів супероксидних радикалів, NO, цитохрому P-450, ММП-2, ММП-9 та 8-оксогуаніну в тканині печінки щодо тривалості ішемії-реперфузії в рамках проспективного дослідження.

6. Визначити наявність корелятивного (асоціативного) зв'язку між функціональним статусом гепатоцитів, тривалістю нормо-ішемії (патологічний ефект ішемії-реперфузії), редокс-статусом та виживаністю хворих.

7. Визначити серед оперованих хворих групи неконтрольованого пухлинного росту шляхом дослідження маркерів редокс-статусу в паренхімі печінки.

8. Впровадити методологію лікування хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки на основі розроблених кореляційних алгоритмів.

Об'єкт дослідження: КРР із метастатичним ураженням печінки.

Предмет дослідження: безпосередні (післяопераційні ускладнення, смертність) та віддалені (загальна кумулятивна та безрецидивна виживаність) результати лікування хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки; корелятивні та асоціативні зв'язки між рівнями маркерів редокс-статусу, тривалістю нормо-ішемії внаслідок ППР та показниками виживаності хворих.

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, інструментальні, патоморфологічні, молекулярні, біофізичні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше науково доведено хірургічну ефективність ПЗХ, застосування якої дозволяє безпечно та ефективно видаляти метастатичні вогнища в межах ЦСП (ускладнення $\geq$ III ступеня склали 24,4 % та 21,8 % в групах ЦСП при периферично локалізованих метастазах (ПЛМ) відповідно, $p=0,15$; 90-денна летальність у групі ЦСП склала 1,2 %).

Вперше науково доведено онкологічну безпеку хірургічної стратегії ПЗХ печінки для видалення метастатичних вогнищ в межах ЦСП (загальна 3-річна кумулятивна виживаність та середнє значення цього показника в групах порівняння ЦСП/ПЛМ склали $(53 \pm 9) \% / (59 \pm 15) \%$ та $(32,9 \pm 3,2) \%$ (95 % ДІ: 26,9–74,4) / $(35,2 \pm 2,2) \%$ (95 % ДІ: 30,9–39,1), $p=0,3$).

Поглиблено наукові дані щодо методики судинної скелетизації із статусом краю резекції R1v (3-річна безрецидивна виживаність для хворих групи ЦСП із краєм резекції R1v та R0 склала відповідно $(25 \pm 13) \%$ та $(33 \pm 9) \%$, $p=0,36$).

Вперше доведено, що ППР сприяє пухлинному росту *in vivo* шляхом активації порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій та зростання швидкості генерування СР (імплантація аденокарциноми МС38, що доповнювалась моделюванням ППР печінки мишей С57ВL, посилила окисні процеси та швидкість генерування СР – на 7 добу – $(3,02 \pm 0,49)$ нмоль/г сирової тканини, контрольна група демонструвала рівень СР – $(0,22 \pm 0,05)$ нмоль/г сирової тканини $p<0,05$), окисно-індукованому пошкодженню ДНК (в тканині печінки моделювання ППР на фоні пухлинного росту в печінці мишей С57ВL призводило до росту рівня 8-оксогуаніну – $(2,25 \pm 0,64)$ нмоль/г тканини порівняно з контрольними значеннями $(0,25 \pm 0,05)$ нмоль/г тканини) $p<0,05$).

Вперше доведено, що гемореологічні ефекти спротивредуючих полімерів забезпечили зниження швидкості генерування СР та окисно-індукованих мутацій ДНК гепатоцитів і попереджують неконтрольований пухлинний ріст (ступінь заміщення пухлинним ростом середньої долі печінки у групах щурів Wistar для груп W1СД, W2СД та WСД складав відповідно $(44,9 \pm 6,2) \%$, $(22,8 \pm 5,3) \%$ та $(29 \pm 9,2) \%$, $p<0,05$).

Уточнено дані, що в гепатоцитах оперованої печінки реєструється перепрограмування метаболізму мітохондрій з окисного фосфорилювання на гліколіз, наслідком чого є формування клітинної гіпоксії (рівень лактату у венозній крові та тканині печінки через 1 год дорівнював відповідно $(1,8 \pm 0,6)$ $(0,8–3,9)$ ммоль/л та $(2,1 \pm 0,4)$ $(1,1–3,9)$ мкМ/г тк.).

Вперше визначено, що нормо-ішемія тривалістю ≥ 45 хв при ППР потенціює порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій та корелює з вираженими порушеннями функціонування гепатоцитів (багатофакторна лінійна регресія показала наявність стійкого негативного зв'язку тривалості нормо-ішемії ≥ 45 хв печінки з рівнем низькоспінового цитохрому Р-450 ($-44,26 \pm 13,97$) (95 % ДІ: -72,01 до -16,52) та NO-модифікованих FeS білків ($-25,05 \pm 13,92$) (95 % ДІ: -52,71 до 2,61).

Вперше показано, що нормо-ішемія внаслідок ППР виявляє онкологічний вплив, оскільки 3-річна кумулятивна виживаність оперованих хворих на КРР, стратифікована за рівнем СР відд. тк. ($< 0,39$ та $\geq 0,39$ нмоль/г сирої тк.·хв), склала відповідно (41 ± 12) % та ($10 \pm 0,9$) %, ($p=0,012$).

Поглиблено дані щодо динаміки змін рівня маркера окисного пошкодження ДНК при резекціях печінки у хворих на КРР; за результатами статистичної обробки значущий вплив на рівень 8-оксогуаніну мали об'єм метастатичної тканини в печінці ($B=(0,48 \pm 0,04)$, $p=0,037$), тривалість нормо-ішемії під час трансекції паренхіми печінки ($B=(0,35 \pm 0,02)$, $p=0,001$) та тривалість оперативного втручання ($B=(0,34 \pm 0,001)$, $p=0,006$).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено та впроваджено в практику методику багатокомпонентної паренхімозберігаючої хірургічної тактики при метастатичному ураженні печінки злоякісними новоутвореннями (патент України на корисну модель 144221 від 10.09.2020). Упроваджено в практику новий спосіб прогнозування перебігу захворювання у хворих на рак прямої кишки з надмірною вагою (патент України на корисну модель 143945 від 25.08.2020). Визначено спосіб комбінованого лікування місцево-поширеного дистального раку прямої кишки (патент України на корисну модель 139013 від 10.12.2019). Розроблено і впроваджено в практику спосіб виконання напіваавтоматичної волюметрії злоякісних новоутворень печінки методом МРТ-дифузії (патент України на корисну модель 136877 від 10.09.2019). Розроблено та адаптовано для впровадження в клінічну практику спосіб застосування вдосконаленого глісонового методу мобілізації воріт печінки (патент України на корисну модель 125303 від 10.05.2018). Розроблено та впроваджено методологію лікування хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки на основі отриманих кореляційних алгоритмів.

Впровадження результатів дослідження. Результати дисертаційної роботи впроваджено у практичну діяльність науково-дослідного відділення пухлин органів черевної порожнини Національного інституту раку (м. Київ), Чернігівського медичного центру сучасної онкології Чернігівської обласної ради, Львівського онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру, кафедри онкології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри онкології і радіології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок. Дисертаційна робота є самостійним завершеним науковим дослідженням. Клінічна та експериментальна робота виконана в науково-дослідному відділенні пухлин органів черевної порожнини Національного інституту раку, окремі дослідження, що стосуються редокс-залежних маркерів, проведені в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАН України. За участю наукового консультанта обрано напрям дослідження, сформульована мета та завдання, визначено методологічні підходи. Автором проаналізовано спеціальну літературу з обраної теми, проведено патентно-інформаційний пошук, експертний аналіз проблеми, визначено об'єкт дослідження. Здобувач провів аналіз, узагальнення отриманих результатів, їх статистичну обробку, написав усі розділи дисертації. Основним є внесок автора в проведення клінічних досліджень, розробку алгоритму адаптації програми ПЗХ для хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки. Усі експериментальні дослідження виконані дисертантом особисто. Із 185 хворих на КРР з метастатичним ураженням печінки, залучених у дослідження, автором самостійно прооперовано 165 хворих. У наукових роботах за темою дисертації, опублікованих у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача, немає конфлікту інтересів, не використані матеріали та висновки захищеної кандидатської дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи повідомлені та обговорені на: 26th (Seoul, 2016) та 27th (Lyon, 2017) World Congress International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists (IASGO); XIII з'їзді онкологів та радіологів України (Київ, 2016); IV з'їзді колопроктологів України за міжнародною участю (Київ, 2016); International Scientific Conference «Integrated Clinical and Approaches in Diagnosis and Therapy of Cancer» (Kyiv, 2016); 10th Anniversary of the EFR European Federation for Colorectal Cancer (Vienna, 2017); науково-практичній конференції «Сучасні технології в хірургії пухлин шлунково-кишкового тракту» (Чернівці, 2017); науково-практичних конференціях для молодих вчених: «Перспективи діагностики та лікування онкологічної патології» (Київ, 2016); «Онкологія сьогодні: від діагностики до лікування» (Київ, 2018), «Сучасні підходи до діагностики та лікування злоякісних новоутворень» (Київ, 2019); EFR 11th International congress (Vienna, 2019); 53th Annual Scientific Meeting of the European Society of Clinical Investigation (Coimbra, 2019); X Міжнародному семінарі студентів та молодих вчених, присвяченому Всесвітньому дню боротьби з раком (Київ, 2019); науково-практичному семінарі «Компоненти програми прискорення відновлення після хірургічних втручань (ERAS) у клінічній практиці» (Київ, 2019); IX (Київ, 2018) та XI Міжнародних медичних конгресах «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (Київ, 2020); X Ювілейному Міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (Київ, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 44 наукових праці: 29 статей (7 – у виданнях, що індексуються у наукометричній базі Scopus, 3 – у міжнародних); 10 – тези з'їздів, конгресів та конференцій; 1 – методичні рекомендації; 4 – патенти України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 371 сторінках машинопису і складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, 4 розділів результатів власного дослідження, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, додатків; ілюстрована 32 таблицями та 95 рисунками. Список використаних джерел містить 363 наукових публікації, у т. ч. 51 кирилицею та 312 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Робота базується на 3 етапах, що включають дослідження *in vivo*, ретроспективне та проспективне дослідження.

Характеристика дослідження in vivo. В якості експериментальної моделі пухлинного ураження печінки та оцінювання впливу на пухлинне прогресування в умовах ППР використали аденокарциноми MC38 та Герена. Експерименти провели на мишах-самцях C57BL віком 8 тижнів (95 мишей) та щурах-самцях Wistar (35 щурів) розводки віварію Національного інституту раку. 95 мишей C57BL були розділені на три групи: група контролю – контроль (n=5) служили інтактним контролем; група А (n=30) – тварини, яким під наркозом перещеплювали карциному товстої кишки MC38 та на 7 добу після перещеплення лінії клітин карциноми видаляли уражену долю печінки з пухлинним вузлом(ами); група В1 (n=30) – тварини, яким під наркозом перещеплювали карциному товстої кишки MC38, одномоментно виконували моделювання ППР та на 7 добу після перещеплення лінії клітин карциноми видаляли уражену долю печінки з пухлинним вузлом(ами); група В2 (n=30) – тварини, яким виконували аналогічну групі В1 програму, доповнюючи її інтраперитонеальним введенням спротивреduкуючих полімерів (СРП), одразу після завершення моделювання ППР.

Дизайн дослідження на щурах Wistar (n=35) включав контрольну групу (n=5), групу W (n=10), у якій виконували прищеплення аденокарциноми Герена в середню долю (СД) печінки, та групи порівняння W1 (n=10), де тваринам після імплантації аденокарциноми Герена в СД виконували селективне моделювання ППР середньої долі печінки, та групу W2 (n=10), в останній доповнювали маніпуляції, ідентичні до групи W1 інтраперитонеальним введенням СРП.

Вплив нормо-ішемії на метастатичний потенціал карциноми товстої кишки MC38 та карциноми Герена проводили, оцінюючи рівні швидкості генерування СР та окисно-індукованих мутацій (8-оксогуанін) у тканині печінки ураженої та віддаленої (умовно здорової) долі, також досліджували морфологічні характеристики тканин.

Характеристика хворих та методи дослідження. В рамках ретроспективного етапу проаналізовано історії хвороби 285 хворих на КРР з метастатичним ураженням печінки, оперованих в умовах Національного інституту раку у 2005–2015 рр.

Дизайн дослідження включав порівняльну оцінку впливу принципів резекції печінки (анатомічно-орієнтовані (n=145) та атипові (n=142) резекції) на безпосередні результати лікування та показники виживаності. Усіх включених хворих розподілили за типом виконаної резекції печінки з приводу метастатичної хвороби: анатомічно-орієнтовані резекції (видаляли метастатичні вогнища з ділянками паренхіми та судинного компонента печінки з урахуванням анатомічних меж долі секції чи сегмента) та атипові резекції (метастатичні вогнища видаляли без повної резекції усієї паренхіми відповідної долі секції чи сегмента). Великі резекції печінки (*major liver surgery*) віднесли до групи анатомічних резекцій.

Принципи хірургії печінки у період виконання аналізу в умовах клініки Національного інституту раку передбачали ширину краю відступу від краю метастатичної тканини від 4 до 10 мм. Критерії включення у ретроспективний етап: хворі на КРР, яким виконали R0-резекцію печінки з приводу метастатичного ураження в період із січня 2005 по січень 2015 р. Критерії виключення: наявність у хворих > 3 метастазів в легені/ях та/чи перитонеальний канцероматоз, паліативний характер резекції первинної пухлини (R1 чи R2 резекція, неоперабельна первинна пухлина). Первинні кінцеві точки дослідження: післяопераційні ускладнення, смертність, загальна кумулятивна виживаність. Вторинні кінцеві точки дослідження: корелятивні та асоціативні зв'язки між тривалістю ПП чи ішемії оперованої печінки (ІОП) із показниками виживаності хворих.

Третій етап роботи виконано в рамках проспективного одноцентрового когортного дослідження, куди включили 185 хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки. Залежно від локалізації метастатичних вогнищ хворих на КРР стратифікували на 2 групи порівняння. До групи 1 (n =107) віднесли хворих, у яких метастатичні вогнища мали периферичну локалізацію (ПЛМ), в паренхімі лівої латеральної секції (S2, S3), задньої секції (S6, S7), Спігелієвій долі S1 та субкапсульно на глибині 1–2 см. До групи 2 (n=78) віднесли хворих із переважним ураженням ЦСП, метастатичні вогнища у яких виявлені переважно в межах паренхіми правого венозного ядра печінки, порталного та кавального конфлюенсу, дорсальної та каудальної частини S1, глибоких сайтах паренхіми S4, S5, S8.

Всі резекції печінки виконувались в умовах Національного інституту раку із січня 2015 по серпень 2020 р. Критерії включення: хворі на КРР із ≥ 1 метастатичним вогнищем в печінці, які мають перспективу резекції (можливість збереження ≥ 30 % умовно здорової паренхіми печінки). Критерії виключення: наявність у хворих > 3 метастазів в легені/ях та/чи перитонеальний канцероматоз. Хірургічна техніка включала принципи *crash-clamping*, рутинно дотримувались ширини відступу від краю метастатичної

тканини ≥ 1 мм. За умови контакту метастатичного вогнища із магістральними судинними структурами печінки 1–3 порядку та відсутності істинної інвазії в останні, застосовували тактику судинної скелетизації (R1v). Всі операції супроводжувались інтраопераційною ультразвуковою навігацією.

Первинні кінцеві точки дослідження: безпосередні хірургічні результати (післяопераційні ускладнення у 30- та 90-добовий післяопераційний період, смертність), загальна кумулятивна та безрецидивна виживаність у групах. Вторинні кінцеві точки дослідження: дослідження корелятивних та асоціативних зв'язків редокс-статусу пухлинного прогресування (швидкість генерування CP, активації родини желатиназ (ММП-2 та ММП-9), рівні швидкості генерування оксиду азоту (NO), окисного пошкодження однієї з 5 основних азотистих основ ДНК, гуаніну (8-оксогуанін) та маркерів, що дозволяють оцінити швидкість відновлення функціонування гепатоцитів (цитохром P-450 (окиснена та низькоспінова форми), NO-FeS-білки, аланінамінотрансфераза (АЛТ), білірубін (БЛ), лактат крові в тканині оперованої печінки) із периопераційними даними та показниками виживаності.

Дизайн роботи схвалений Комісією з біоетики при Національному інституті раку (протокол № 88 від 18 січня 2017 р.).

Усі хворі в рамках проспективного дослідження, після підписання інформованої згоди, проходили обстеження: загальноклінічні (фізичне обстеження, визначення форми, стадії, ступеня тяжкості та характеру метастазування пухлинного процесу); лабораторні (розгорнутий загальний та біохімічний аналізи крові, коагулограма, загальний аналіз сечі); рентгенологічні (УЗД ЕХО-КТ, 3-зонна КТ з контрастуванням, МРТ органів черевної порожнини та малого таза (за показами) із контрастуванням, 3D реконструкція DICOM зображень, посегментна волюметрія, картування метастатичних вогнищ); інструментальні (колоноскопія, езофагогастроскопія, електрокардіографія); біофізичні (метод ЕПР-спектроскопії та зимографії), морфологічні (імуногістохімічний).

Для визначення редокс-статусу оперованої печінки забір тканин виконували інтраопераційно (забирали $\sim 0,5$ см³ умовно здорової паренхіми печінки на відстані ≥ 5 см від метастатичного(их) вогнищ) та одразу після видалення макропрепарату (забирали зразки метастатичних вогнищ $\sim 0,5$ см³ та прилеглої паренхіми печінки, в межах 1 см від краю метастазу $\sim 0,5$ см³). Молекулярні дослідження включали вивчення активності FeS-білків ЕТЛ мітохондрій в тканині печінки методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) при температурі 77 К. Рівні CP, NO, генерованих в мітохондріях гепатоцитів, НАДФ·Н-оксидазою (Nox-2) та iNOS нейтрофілів визначали методом ЕПР із застосуванням технології Spin Traps та спінових пасток.

Стан міжклітинного матриксу печінки оцінювали по активності матриксних металопротеїназ (ММП-2 і ММП-9), яка реєструвалась методом зимографії в поліакриамідному гелі. За умовну одиницю (у. о.) активності желатиназ в сироватці крові прийнято активність 1 мкг ферменту в 1 мл вихідного контрольного зразка; в сечі – 1 мкг ферменту на 1 г креатиніну.

Забір венозної крові здійснювали за 1 добу до і на 3 добу після операції з використанням антикоагулянтів (Трилон Б). Визначення рівня 8-оксогуаніну в елюаті проводили спектрофотометричним методом. Функціональний стан енергетичної та системи детоксикації клітин печінки, рівні швидкості генерування СР тканиною печінки, мітохондріями гепатоцитів та тканинноасоційованими нейтрофілами визначали методом ЕПР та технології спінових пасток (SpinTraps) за кімнатної температури. Лактат у тканині печінки визначали спектрофотометрично.

Відповідно до мети й завдань дослідження в рамках ретроспективного аналізу хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки було розподілено на групи порівняння за принципом виконання резекцій печінки: анатомічні (145 осіб) та атипові резекції (142 особи). Медіана віку серед всіх 287 пацієнтів склала 56 років, наймолодшим був пацієнт 27 років, найстаршою – 83-річна хвора. В групах порівняння медіана віку склала 53 (27–77) роки та 54 (27–83) роки відповідно для груп анатомічних та атипових резекцій, $p=0,14$. Розподіл за статтю в групах анатомічних/атипових резекцій був однорідний – 89 (61,4 %)/56 (38,6 %) та 66 (46,5 %)/76 (53,5 %) відповідно чоловіки/жінки, $p=0,27$. Більшість хворих у групі анатомічних резекцій печінки мали поширені первинні пухлини – рТ3 – 38 (26,2 %) та рТ4 – 101 (69,6 %). У групі порівняння не виявили статистично достовірної відмінності – рТ3 зареєстрували у 52 (36,6 %), а рТ4 у 79 (55,5 %) хворих відповідно.

Математичний аналіз не виявив достовірної відмінності за розподілом хворих залежно від локалізації первинної пухлини. Первинну пухлину діагностували в лівій половині товстої кишки – у 211 (73,6 %) осіб, тоді як пухлини в правій половині тільки у 76 (26,4 %) хворих. В групах анатомічних та атипових резекцій синхронність маніфестації метастатичного процесу виявили у 110 (75,8 %) та 77 (54,2 %) випадках відповідно, $p=0,14$. Білобарне метастатичне ураження зареєстровано у 26 (17,9 %) та 18 (12,6 %) випадках відповідно для груп анатомічних та атипових резекцій, $p=0,22$. В групі анатомічних резекцій виявили 43 (29,6 %) / 47 (32,4 %) випадків відповідно для рN1/pN2. В групі атипових резекцій метастатичне ураження рN1/pN2 діагностували без достовірної статистичної відмінності у 36 (25,4 %) / 27 (19,1 %), $p=0,37$.

Залучені в дослідження хворі також не відрізнялись за статусом здоров'я (ASA 2), визначеного на етапі підготовки до операційного втручання у 115 (79,3 %) та 128 (90,2 %) випадках відповідно при анатомічних та атипових резекціях ($p=0,26$).

В рамках проспективного етапу 187 хворих стратифікували на 2 групи порівняння залежно від локалізації метастатичних вогнищ. До групи 1 (107 осіб) віднесли хворих, у яких метастатичні вогнища мали периферичну локалізацію (ПЛМ), до групи 2 (78 осіб) – хворих із переважним ураженням ЦСП. За показниками віку, статевого розподілу, статусом хворих за шкалою ASA, локалізацією первинних пухлин, ступенем ураження регіонарних лімфатичних вузлів, кількістю уражених сегментів, кількістю хворих

із солітарним чи білобарним метастатичним поширенням, розміром метастатичних вогнищ, а також за тривалістю і кратністю проведеної протипухлинної терапії групи порівняння не мали статистично значущих відмінностей.

Порівняння максимальних діаметрів метастатичних вогнищ серед оперованих пацієнтів показало, що значення медіани цього показника серед 185 хворих на КРР склало 38,6 мм, а в групі ЦСП та ПЛМ – 40,5 мм та 37,16 мм відповідно ($p = 0,49$).

З метою стратифікації за кількістю видалених метастазів хворих на КРР було розділено на підгрупи: 1; 2–5; 6–10; 11–15 та ≥ 15 метастатичних вогнищ, що виконано відповідно у 24 (13 %), 75 (40,5 %), 35 (18,9 %), 44 (23,8 %) та 7 (3,8 %) випадках відповідно. Медіана (мін. – макс.) кількості видалених метастазів серед 185 хворих склала 6 (1–19), для груп ЦСП/ПЛМ відповідно 6 (1–16) / 7 (2–19) ($p=0,16$).

Попарний аналіз отриманих даних продемонстрував наявність статистично значущої відмінності в когорті хворих ЦСП/ПЛМ, яким видалили від 2 до 5 метастатичних вогнищ, що склали відповідно 24 (30,8 %) / 51 (47,7 %), ($p=0,02$). Солітарні метастази (1 метастатичне вогнище) видалили у 10 (12,8 %) та 14 (13,1 %) хворих відповідно для груп ЦСП та ПЛМ ($p=0,95$). У когортах 6–10, 11–15 та ≥ 15 увійшли 19 (24,4 %) / 16 (15 %), 23 (29,5 %) / 21 (19,6 %) та 2 (2,6 %) / 5 (4,7 %) відповідно для ЦСП/ПЛМ. Проте, об'єм видаленої метастатичної тканини складав 259 см³ та 216 см³ відповідно для хворих у групі ЦСП та ПЛМ ($p=0,23$). Отже, групи були стратифіковані за пухлинним навантаженням метастатичною тканиною в печінці.

Хворі, включені в проспективний етап роботи, отримували системне протипухлинне лікування відповідно до стандартів NCCN, чії рекомендації переживали еволюцію у період із 2015 по 2020 р. В цілому застосовували 5 різновидів системної протипухлинної терапії в неоад'ювантному режимі. Кількість курсів протипухлинної терапії для 185 хворих склала 3 (1–6), найчастіше (30,8 %) призначали лінію в режимах XELOX/FOLFOX-6 та комбінацію із моноклональними антитілами XELOX/FOLFOX-6 + bevacizumab/cetuximab (8,1 %).

Режим FOLFIRI самостійно використовували у 94,8 % випадків, у поєднанні із bevacizumab/cetuximab 2,2 %. У 3,3 % випадках призначили триплет, FOLFOXIRI, аналіз між групами порівняння ЦСП та ПЛМ не виявив статистичної відмінності як за кількістю курсів, так і за їх типом (χ^2 df = 5,9; $p = 0,31$). В ад'ювантному режимі медіана кількості курсів ХТ склала 5 (3–9), в групах ЦСП та ПЛМ показник становив 5 (3–8) та 6 (4–9).

Режим XELOX/FOLFOX-6 використали у 45,9 % хворих, для груп ЦСП та ПЛМ у 42,3 % та 48,6 % відповідно. Режим FOLFIRI використовували у 28,6 % випадків, у тому числі в групі ЦСП (21,8 %) та ПЛМ (33,6 %).

Отримані результати піддавались статистичному аналізу за допомогою статистики SPSS 20.0 (IBM, Армонк, штат Нью-Йорк, США) та Prism 8.0 for macOS, version 8.4.2.

Нормальність розподілу змінних перевіряли тестом Шапіро–Вілکا. Зважаючи на те, що більшість параметрів мали розподіл, відмінний від нормального, для опису вибіркового розподілу вказували медіану (95 % ДІ: мін.–макс.).

Для порівняння незалежних вибірок із ненормальним розподілом використовували тест Манна–Уїтні, а для залежних – Вілкоксона. Категоріальні величини порівнювали, застосовуючи χ^2 -тест, точний двосторонній критерій Фішера. За критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали $p=0,05$.

Вживаність хворих аналізували за методом Каплана–Мейєра. Логістична регресійна модель була створена для визначення взаємозв'язку між рівнями 8-оксогуаніну та іншими незалежними факторами. Оцінку впливу незалежних предикторів (факторів) на ризики виживання оцінювали з допомогою регресії Кокса. Багатофакторний регресійний аналіз використали для визначення асоціативного зв'язку між ризиками виживаності та показниками редокс-статусу оперованої печінки.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Етап роботи, виконаний *in vivo*, включав вивчення впливу ППР на здорову тканину печінки (мишей C57BL та щурів Wistar) шляхом оцінки маркерів редокс-гомеостазу та окисно-індукованих мутацій, а також можливості їх корекції.

Виявили достовірне підвищення рівня генерування СР в тканині печінки мишей C57BL – $(1,6 \pm 0,4)$ нмоль/г сирої тканини унаслідок формування вогнищ росту аденокарциноми (група А) порівняно з контрольними значеннями – $(0,22 \pm 0,05)$ нмоль/г сирої тканини. Створення умов ППР печінки посилило окисні процеси (група В1), швидкість генерування СР складала $(3,02 \pm 0,49)$ нмоль/г сирої тканини, а фармакологічне попередження (інтраперитонеально вводились спротивредуючі полімери) ППР забезпечило достовірно нижчу швидкість генерування СР – $(2,4 \pm 0,58)$ нмоль/г сирої тканини, $p < 0,05$.

У клітинах паренхіми печінки тварин контрольної групи рівень 8-оксогуаніну визначався на рівні $(0,25 \pm 0,05)$ нмоль/г тканини. Розвиток метастатичного вузла (група А) та моделювання ППР на фоні пухлинного росту (група В1) спричиняли достовірне зростання маркера окиснення гуаніну в ДНК до значень відповідно $(1,85 \pm 0,71)$ та $(2,25 \pm 0,64)$ нмоль/г тканини. Введення в наномолярних концентраціях СРП (група В2) в черевну порожнину мишей, після імплантації клітин аденокарциноми MC38 та моделювання ППР, призвело до достовірної стабілізації пошкодження геному СР – $(1,1 \pm 0,5)$ нмоль/г тканини, $p < 0,05$ (табл. 1).

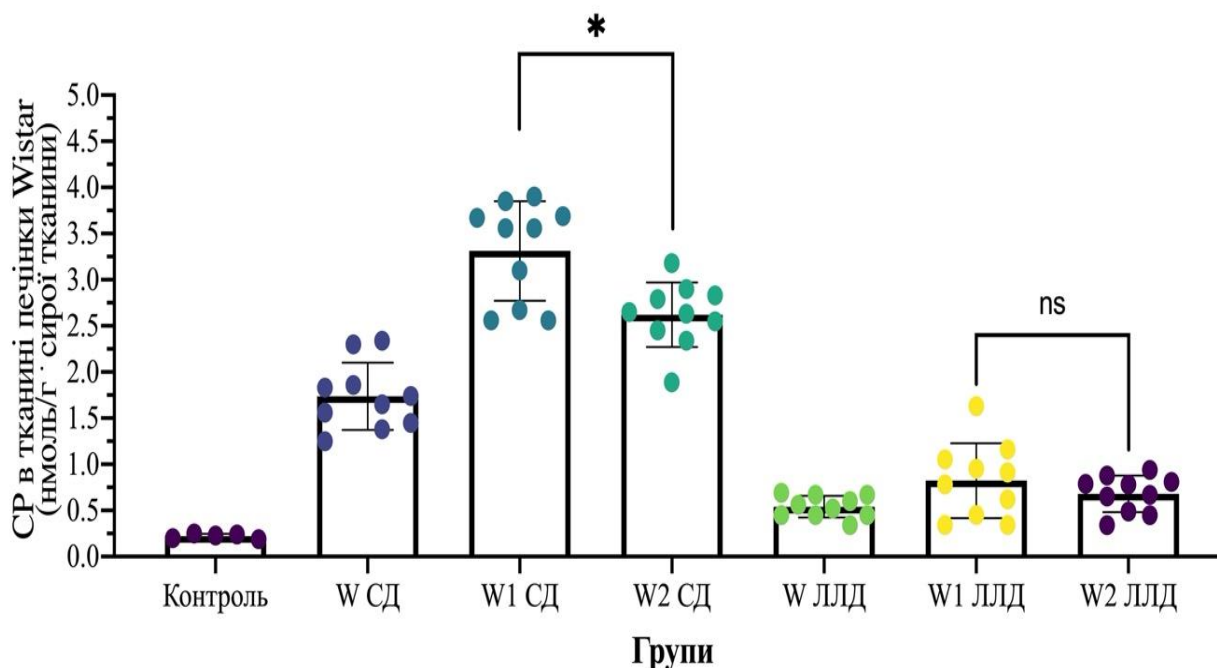
Таблиця 1

**Показники швидкості генерування СР та 8-оксогуаніну
у віддаленій від метастатичного вогнища тканині печінки мишей C57BL**

Змінна	Група				p*
	контроль, n=5	A, n=30	B1, n=30	B2, n=30	
Швидкість генерування СР, нмоль/г сирової тканини	$0,22 \pm 0,05$	$1,6 \pm 0,4$	$3,02 \pm 0,49$	$2,4 \pm 0,58$	$<0,05$
Рівень 8-оксогуаніну, нмоль/г тканини	$0,25 \pm 0,05$	$1,85 \pm 0,71$	$2,25 \pm 0,64$	$1,1 \pm 0,5$	$<0,05$

Примітка. * – порівнювали середні значення групи В1 та групи В2.

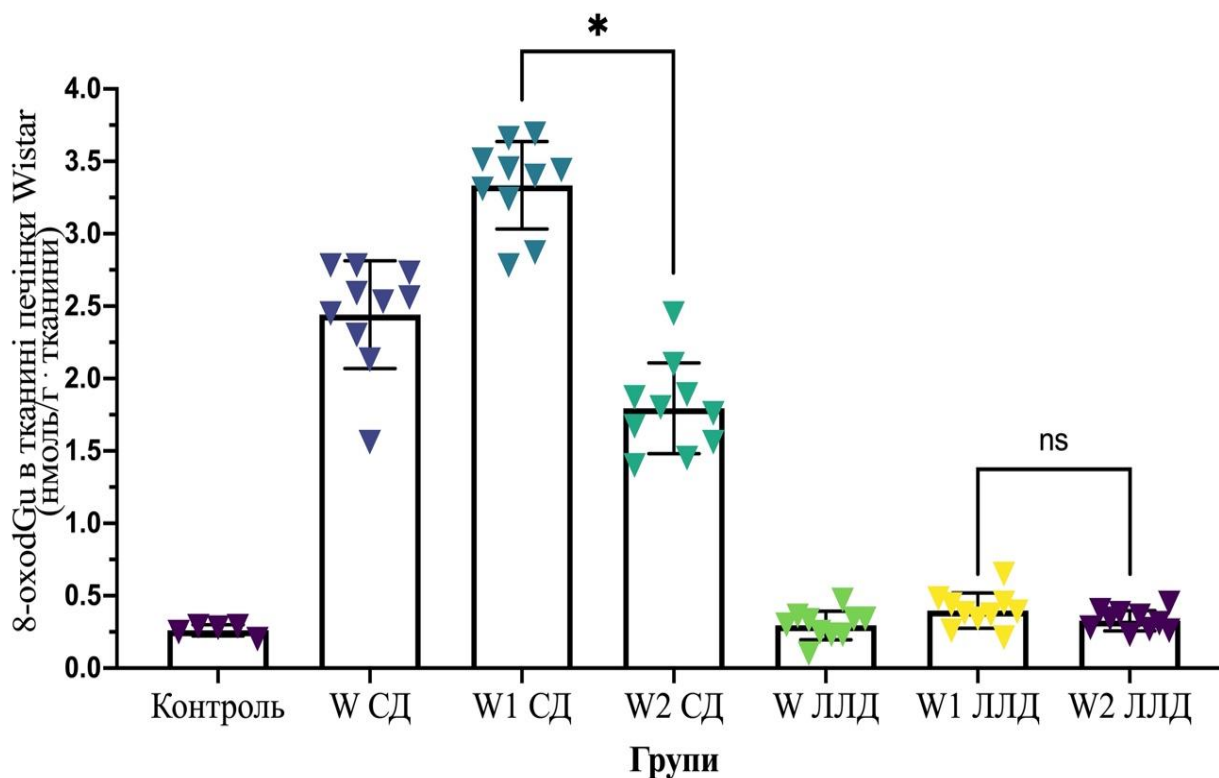
Отримані показники швидкості генерування СР в середній долі (СД) та лівій латеральній (ЛЛД) долях печінки щурів Wistar. В групах контролю, W СД, W1 СД та W2 СД рівень СР склав ($0,22 \pm 0,12$), ($1,7 \pm 0,4$), ($3,3 \pm 0,5$) та ($2,6 \pm 0,4$) відповідно ($p < 0,05$). А швидкість генерування СР в ЛЛД печінки, де тканини не були в стані ППР була в межах ($0,54 \pm 0,1$), ($0,82 \pm 0,4$) та ($0,7 \pm 0,2$) відповідно в групах W ЛЛД, W1 ЛЛД та W2 ЛЛД (рис. 1).



Примітки: * – виявлена достовірна відмінність за середнім значенням досліджуваних показників між групами W1 СД та W2 СД; ns – немає статистичної відмінності між групами W1 ЛЛД та W2 ЛЛД за рівнем СР.

Рис. 1. Рівні генерування СР (*scatter-plot*) в паренхімі печінки в групах щурів Wistar: групи W СД, W1 СД та W2 СД – вивчали молекулярні маркери в СД печінки; групи W ЛЛД, W1 ЛЛД та W2 ЛЛД – вивчали молекулярні маркери в ЛЛД печінки

Значення рівня окисного пошкодження ДНК в СД печінки в групах щурів Wistar: контроль, W СД, W1 СД та W2 СД склали ($0,26 \pm 0,03$), ($2,4 \pm 0,4$), ($3,3 \pm 0,3$) та ($1,8 \pm 0,3$) відповідно ($p < 0,05$). Тоді як рівні 8-оксогуаніну в ЛЛД печінки аналогічних груп щурів були на рівні ($0,3 \pm 0,1$), ($0,4 \pm 0,12$) та ($0,3 \pm 0,16$) для груп W ЛЛД, W1 ЛЛД та W2 ЛЛД відповідно (рис. 2).

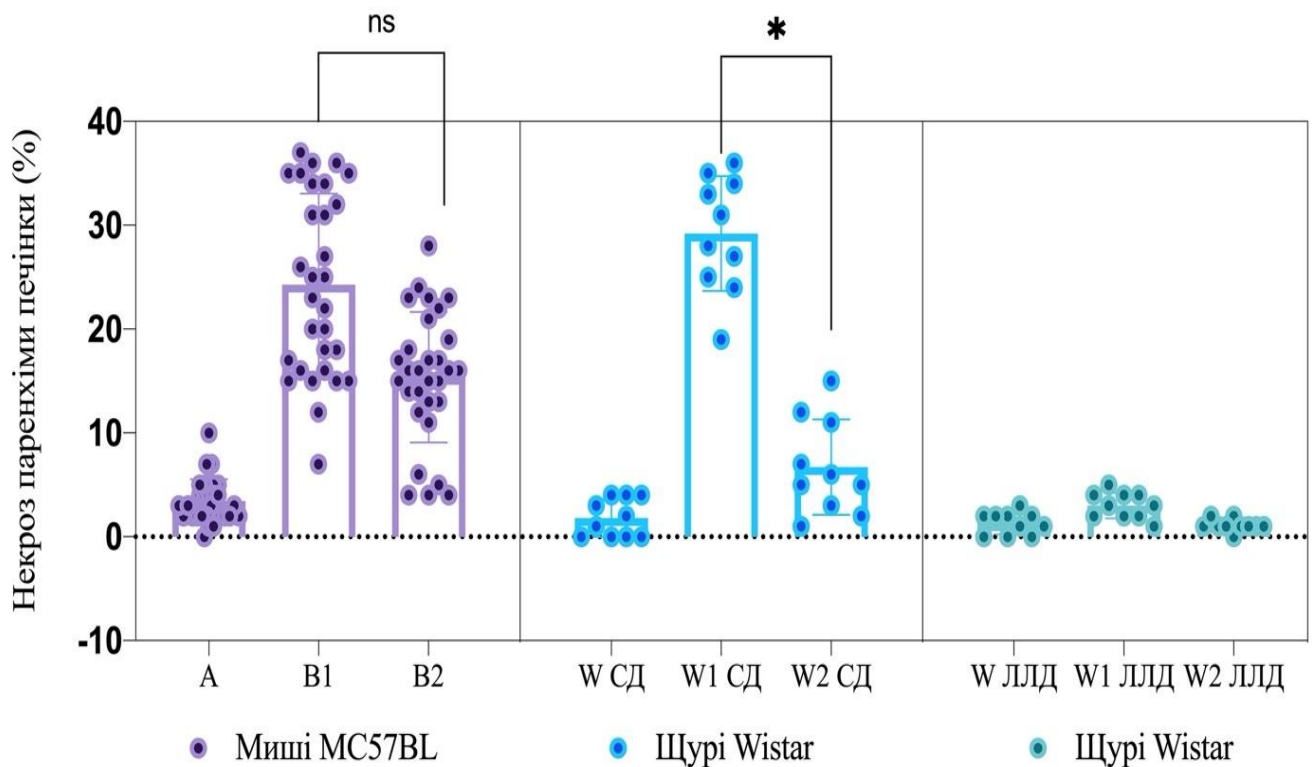


Примітки: * – виявлена достовірна відмінність за середнім значенням досліджуваних показників між групами W1 СД та W2 СД; * – виявлена достовірна відмінність за середнім значенням 8-оксогуаніну у групах W1 СД та W2 СД; ns – немає статистичної відмінності між групами W1 ЛЛД та W2 ЛЛД за рівнем 8-оксогуаніну.

Рис. 2. Рівні генерування 8-оксогуаніну (*scatter-plot*) в паренхімі печінки в групах щурів Wistar

Ступінь вираженості некробіотичних змін формених елементів паренхіми печінки у групах порівняння мишей MC57BL: А – ($3,4 \pm 2,1$), В1 – ($24,3 \pm 8,7$) та В2 – ($15,4 \pm 6,7$). В групі щурів Wistar виявлена достовірна відмінність між когортами W1 СД ($29,2 \pm 5,5$) та W2 СД ($6,7 \pm 4,6$) ($p < 0,05$), а в когорті W СД – ($1,8 \pm 1,8$). В ЛЛД печінки щурів Wistar ступінь некрозу паренхіми був незначним та склав ($1,3 \pm 1,1$), ($3,0 \pm 1,3$) та ($1,1 \pm 0,5$) % для когорт W ЛЛД, W1 ЛЛД та W2 ЛЛД відповідно (рис. 3).

Також виявлено достовірну статистичну відмінність у групах щурів Wistar за показником заміщення пухлинним ростом СД печінки: для W1 СД – ($44,9 \pm 6,2$) % та W2 СД – ($22,8 \pm 5,3$) % ($p < 0,05$), у групі W СД цей показник був ($29 \pm 9,2$) %.



Примітки: * – виявлена достовірна відмінність за ступенем некрозу паренхіми печінки у групах щурів Wistar W1 CD та W2 CD; ns – немає статистичної відмінності між групами мишей MC57BL B1 та B2 за ступенем некрозу паренхіми печінки.

Рис. 3. Графічне зображення (*scatter-plot*) рівнів некрозу паренхіми печінки мишей MC57BL та щурів Wistar у групах

Отже, отримані нами дані *in vivo* показали, що клітинна регенерація печінки внаслідок хірургічного стресу та ППР може бути стимулом до активації росту малих прихованих депозитів клітинних пухлин, які неможливо виявити за допомогою стандартних методів обстеження хворих у клініці. А швидкість генерування СР прямо пропорційно корелює з активацією пухлинного росту та потенціюється ППР. Тоді як інтраперитонеальне додавання СРП тваринам призводить до всмоктування останнього в кров'яне русло та перерозподілу формених елементів крові в судинному просвіті. Отримані морфологічні дані підтверджують, що моделювання ППР всієї печінки чи її окремої долі у тварин супроводжується пошкодженням здорової паренхіми органа ППР. Водночас, застосування малих доз СРП в умовах експерименту дозволило значно редукувати вищевказані патологічні впливи ППР і, тим самим, зменшити його вплив на ступінь пошкодження паренхіми та швидкість росту прищепленої лінії аденокарциноми Герена у щурів Wistar. Базуючись на всіх описаних таких даних, ми вважаємо, що застосування СРП має потенціал до зниження гіпоксичного та про-туморогенного ефектів.

Ретроспективний етап роботи включав аналіз вибірки 287 хворих на КРР, яких було стратифіковано у 2 групи порівняння за характером виконаної резекції печінки: 145 хворих увійшло в групу анатомічно-орієнтованих резекцій та 142 – в групу атипових резекцій.

Великі резекції (*major liver surgery*) було виконано 114 (32,8 %) хворим, інші увійшли в групу анатомічних резекцій. У групі анатомічних резекцій об'єм видалення включав розширену правобічну гемігепатектомію, розширену лівобічну гемігепатектомію, правобічну гемігепатектомію, лівобічну гемігепатектомію, резекцію ≥ 4 та в межах 3 анатомічних сегментів печінки у 21 (14,5 %), 5 (3,4 %), 58 (40,0 %), 19 (13,1 %), 11 (7,6 %) та 31 (21,4 %) хворих відповідно. В групі атипових резекцій розподіл був 34 (23,9 %), 25 (17,6 %) та 83 (58,5 %) для хворих, яким видалили метастатичні вогнища в межах 1, 2 сегментів печінки та здійснили ПЗХ хірургію.

Тяжкі ускладнення ($\geq$ III ступеня за класифікацією Clavien–Dindo) та післяопераційна смертність склали 31 (21,4 %) / 6 (4,2 %) та 13 (9,0 %) / 2 (1,4 %) відповідно для груп анатомічних/атипових резекцій ($p < 0,05$). В групі анатомічних резекцій зареєстрували ГПН ступеня В та С у 9 (6,2 %) випадках, а у групі порівняння даний вид ускладнення тяжкого ступеня не визначався. Повторна госпіталізація була достовірно частішою в групі анатомічних резекцій – 24 (16,6 %) проти 2 (1,4 %) випадків відповідно ($p < 0,05$).

Швидкість післяопераційного відновлення хворих була гіршою серед хворих групи анатомічно-орієнтованих резекцій, тривалість перебування в умовах стаціонару склала 12 (6–35) діб та 8 (4–21) діб відповідно для когорти анатомічних та атипових резекцій, ($p < 0,05$). Статус гістологічної чистоти краю резекції відповідав R0 у 123 (84,8 %) та 121 (85,2 %) клінічних випадках для груп анатомічних та атипових резекцій, тоді як R1 виявили у 32 (22,1 %) та 11 (7,7 %) хворих аналогічних груп ($p < 0,05$). Отже, враховуючи отримані дані, можна стверджувати, що дотримання принципів анатомічної резекції печінки не корелює із зменшенням частоти статусу краю резекції R1, що референтно світовим даним.

Віддалені результати продемонстрували (рис. 4), що медіана загального виживання склала $(48,6 \pm 4,7)$ (95 % ДІ: 39,3–57,9) міс. та $(32,2 \pm 42,6)$ (95 % ДІ: 25,5–35,8) міс., а 3- / 5-річна кумулятивна виживаність склала (54 ± 6) / (40 ± 5) % та (46 ± 9) / (33 ± 6) % відповідно для групи атипових та анатомічних резекцій ($p=0,03$). При тому, що кількість хворих із білобарним метастатичним ураженням склала ≤ 7 %, а комбіновані резекції печінки із радіочастотною абляцією виконали в 25 (8,7 %) випадках.

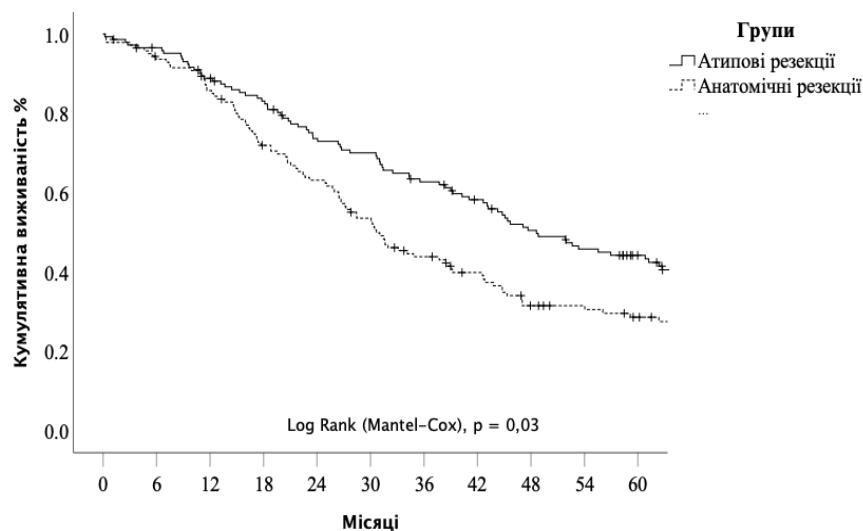


Рис. 4. Загальна кумулятивна виживаність для ретроспективного аналізу 287 хворих на КРР; групи стратифіковано за фактором анатомічних ($n=145$) та атипових ($n=142$) резекцій печінки (*Kaplan–Meier plot*)

Проспективний етап включав результати аналізу 185 хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки, оперованих за розробленими принципами ПЗХ. Хворих на КРР стратифікували на 2 групи порівняння залежно від переважної локалізації метастатичних вогнищ в паренхімі печінки: периферично локалізовані (група ПЛМ, $n=107$) та центрально локалізовані (група ЦСП, $n=78$). Метакронні метастатичні вогнища оперували у 50 % та 40,2 % випадках. Хірургія первинних пухлин КРР здійснювалась лапароскопічно у 57 (73,1 %) та 78 (72,8 %) випадках серед ЦСП та ПЛМ хворих. Одномоментно первинна пухлина та метастази в печінці видаляли у 14 (17,9 %) випадках групи ЦСП та 19 (17,7 %) – для хворих ПЛМ, $p=0,97$.

За результатами ретроспективного етапу, застосування великих резекцій асоціюється із R1 резекціями у 30 % хворих. При цьому сучасні схеми ХТ та їх тривалість «пом'якшують» негативний фактор R1. Разом з тим, адаптація інтраопераційного УЗД та вдосконалення КТ та МРТ діагностики дозволили визначати з високим рівнем достовірності наявність істинної пухлинної інвазії у стінку інтрапаренхіматозних магістральних судинних структур (головних печінкових вен та глісонових одиниць 1–3 порядку). Така інформація дозволила виконувати альтернативні до класичного підходу ПЗХ резекції, що реалізували шляхом поєднання інтраопераційної ультразвукової навігації, орієнтування в 3D анатомії судинних структур 1–3 порядку та застосування судинної скелетизації R1v. З нашої точки зору, описаний підхід є альтернативою у випадках центрально локалізованих метастатичних вогнищ. Методика скелетизації судин печінки, при їх контакті із метастатичним вогнищем, не входить в міжнародні стандарти, однак за даними ряду перспективних досліджень, опублікованих у 2020 р., R1v у поєднанні з сучасним ХТ лікуванням дозволяє досягти онкологічного ефекту, рівноцінного R0.

За даними власного проспективного дослідження, принцип ПЗХ резекцій в групі ЦСП корелював із частішим застосуванням судинної скелетизації R1v. Такий підхід було імплементовано у 24 (30,7 %) випадках при центрально локалізованих метастазах та в 6 (5,6 %) – групи ПЛМ ($p=0,001$).

Разом з тим, адаптація ПЗХ в групі ЦСП дозволила успішно виконувати повне видалення множинних білобарних метастазів (≥ 15 вогнищ), без застосування емболізації портальної вени, за один хірургічний етап.

Тривалість операцій не залежала від переважної локалізації метастатичних вогнищ КРР, а медіана склала 306 хв та 285 хв відповідно для ЦСП та ПЛМ груп ($p=0,08$). Великі резекції печінки (видалення ≥ 3 анатомічних сегментів) виконали у 5 (6,4 %) та 14 (13,1 %) випадках для груп ЦСП та ПЛМ відповідно ($p=0,14$). Безпосередні результати продемонстрували, що тяжкі ускладнення зареєстровано у 19 (24,4 %) та 17 (21,8 %) хворих відповідно для груп порівняння, $p=0,15$. Не було зареєстровано відмінностей у групах за рівнем гепатоспецифічних ускладнень, останній склав 7 (8,9 %) та 5 (4,6 %) для ЦСП та ПЛМ відповідно ($p=0,3$).

У групі з центрально локалізованими метастазами ГПН не перевищувала ступінь А та виявлена у 5 (6,4 %) оперованих хворих. Для групи ПЛМ ГПН в ранньому післяопераційному періоді діагностували у 8 (7,5 %) та 1 (0,9 %) випадках відповідно ступеня А та В. Серед тяжких гепатоспецифічних ускладнень найчастіше реєстрували жовчну норицю та білому. Медіана загальної тривалості нормо-ішемії (табл. 2) під час трансекції паренхіми печінки була значно вищою у групі ЦСП – ($39 \pm 25,8$) хв порівняно з групою ПЛМ – ($15 \pm 18,05$) хв ($p < 0,001$). Центральні ПЗХ резекції не асоціювались з більшою крововтратою чи показником периопераційної гемотрансфузії. За 30-денний післяопераційний період був зареєстрований 1 (1,3 %) випадок смертності серед оперованих хворих групи ЦСП, спричинений мезентеріальним тромбозом. Рівень післяопераційної смертності за 90-денний період склав 1,3 % та 0,9 % для хворих груп ЦСП та ПЛМ відповідно.

Таблиця 2

Периопераційні та постопераційні показники у групах, n (%)

Показник	ЦСП, n=78	ПЛМ, n=107	p
Периопераційна гемотрансфузія, медіана (мін.–макс.), од.	0 (0–4)	0 (0–2)	0,2
Тривалість операції, медіана (мін.–макс.), хв	306 (41–520)	285 (35–735)	0,08
Тривалість нормо-ішемії, мед. $\pm$ СП, хв	$39 \pm 25,8$	$15 \pm 18,05$	0,001
Загальний рівень ускладнень	30 (38,5)	44 (41,1)	0,6
Тяжкі ускладнення ($\geq$ III ступеня)	19 (24,4)	17 (21,8)	0,15
Гепатоспецифічні ускладнення	7 (8,9)	5 (4,6)	0,3
30-денна смертність	1 (1,3)	–	
90-денна смертність	1 (1,3)	1 (0,9)	

В рамках проведених досліджень розробили альтернативні хірургічні тактики для хворих на КРР із білобарним метастатичним ураженням печінки: розширена резекція 2-го сегмента печінки з резекцією ЛПВ та збереженням вени умбілікальної щілини, одномоментна системна розширена задня правобічна секціонектомія з резекцією дорсального субсегмента S1d та субсегментектомії передньої і задньої секції печінки.

Разом з тим, адаптація ПЗХ нівелювала доцільність виконання технічно складних судинних підходів (ЕПВ, ALPPS, ДЕР та великих резекцій), що несуть загрозу для онкологічного ефекту від лікування, особливо у випадку незадовільного результату 1-го хірургічного етапу. Разом з тим, застосування такого підходу привело до достовірного зменшення випадків виражених гепато-специфічних ускладнень, найбільш загрозливим серед яких є ГПН та синдрому малої печінки, що виникає при розширених резекціях органа. Відповідно до наших даних та світового досвіду, стратегію ПЗХ можливо використати у 50–90 % випадків хворих на КРР.

Сучасне бачення метастатичного процесу при КРР імплементується в клінічну діяльність через сприйняття останнього не як смертельної хвороби, а хронічного захворювання.

Гіпотеза ініціації метастатичної хвороби при КРР стверджує, що всі метастази мають характер синхронних із первинною пухлиною, які поширюються з моменту проростання первинною пухлиною базальної мембрани. Метакронними розцінюють дисеміновані «сплячі» клітини аденокарциноми КРР, що присутні на ранніх стадіях захворювання та не змогли активувати свій ріст і поділ внаслідок супресорної дії імунітету. Останні також можуть інфільтруватись у паренхіму оперованої печінки, тому великі резекції та широкий край відступу від метастатичного вогнища потенційно призводять до низьких показників виживаності через нездійсненність ре-резекцій.

Дані опосередковано підтверджуються власними результатами. Так, із 185 хворих у 141 зареєстрували повторне метастатичне ураженням оперованої печінки. Ре-резекції печінки з приводу метастатичного ураження склали 54 (69,2 %) в групі ЦСП та 81 (75,7 %) – в групі ПЛМ. В групах ЦСП/ПЛМ 2, 3, 4 та 5 ре-резекцій печінки виконали відповідно у 15 (19,2 %) / 21 (19,6 %), 7 (9,0 %) / 18 (16,8 %), 6 (7,7 %) / 9 (8,4 %) та 0 / 1 (0,9 %) випадках ($p=0,7$). Серед тяжких гепатоспецифічних ускладнень, найчастіше реєстрували жовчну норицю та білому. Медіана загальної тривалості нормо-ішемії під час трансекції паренхіми печінки була значно вищою у групі ЦСП – ($39 \pm 25,8$) хв порівняно з групою ПЛМ – ($15 \pm 18,05$) хв ($p < 0,001$).

Віддалені результати продемонстрували, що загальна 3-річна кумулятивна виживаність для 185 хворих на КРР, незалежно від розподілу на групи, склала (54 ± 7) %, тоді як середнє значення виживаності складало ($34,9 \pm 1,7$) %, (95 % ДІ: 31,5–38,3). Аналіз загальної виживаності за стратифікуючими змінними: локалізація первинної пухлини (правобічно та лівобічно локалізований КРР), клінічне виявлення метастатичного ураження печінки (метакронні і синхронні метастази), поширеність метастатичного

процесу (унілобарне і білобарне) та статус краю резекції (R0 і R1v) не виявив статистично достовірної відмінності впливу вказаних факторів на віддалені результати лікування хворих на колоректальний рак із застосуванням ПЗХ (табл. 3).

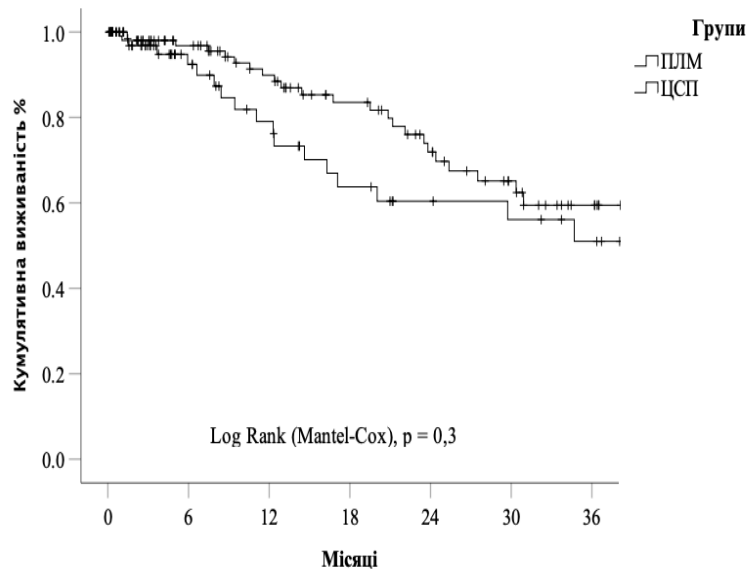
Таблиця 3

Порівняльна характеристика показників загальної виживаності

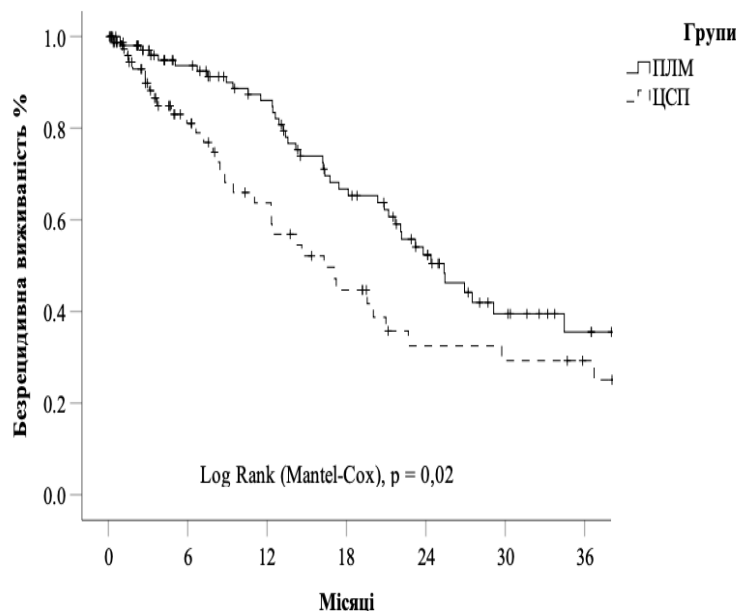
Показник	n	Група (95 % ДІ: верхня–нижня межа)				p
		ЦСП		ПЛМ		
		Сер ± СП, %	Медіана ± СП, міс.	Сер ± СП, %	Медіана ± СП, міс.	
Усі хворі в групах	78/ 107	32,9 ± 3,2 (26,9–74,4)	–	35,2 ± 2,2 (30,9–39,1)	–	0,3
Правобічно локалізований КРР	14/ 14	40,4 ± 2,9 (34,6–46,4)	42,1 ± 6,1 (30,2–53,8)	26,9 ± 4,4 (18,3–35,5)	30,9 ± 5,2 (20,7–41,1)	0,09
Лівобічно локалізований КРР	64/ 93	31,2 ± 3,3 (25,5–37,2)	–	35,2 ± 2,3 (30,9–39,4)	–	0,23
Синхронні метастази (pM1)	39/ 64	27,6 ± 3,8 (20,2–35,2)	29,7 ± 11,2 (7,8–53,7)	33,8 ± 2,7 (28,5–39,2)	39,2 ± 7,3 (24,9–53,5)	0,12
Метахронні метастази (pM0)	39/ 43	35,7 ± 4,2 (27,7–43,8)	44,6 ± 23,8 (0,0–60,5)	32,3 ± 2,3 (27,8–36,6)	–	0,8
Білобарне метастатичне ураження	29/ 31	20,5 ± 3,6 (13,5–27,6)	14,6 ± 5,1 (4,7–24,6)	34,9 ± 3,7 (27,5–42,3)	39,2	0,02
Унілобарне метастатичне ураження	49/ 76	40,9 ± 3,1 (34,8–47,1)	44,6	32,2 ± 1,6 (28,7–35,4)	–	0,6
Статус краю резекції печінки R0	54/ 101	35,8 ± 1,8 (16,4–39,9)	31,5 ± 2,7 (7,4–39,9)	39,2 ± 1,1 (18,4–42,3)	–	0,18
Статус краю резекції печінки R1v	24/ 6	23 ± 5,3 (12,8–33,7)	20,1 ± 6,9 (6,3–33,7)	*	*	

Примітки: – на момент виконання аналізу, в групі не було досягнуто показника медіани загального виживання; * – недостатньо хворих для проведення аналізу виживаності.

Загальна 3-річна кумулятивна виживаність та середні значення в групах порівняння ЦСП/ПЛМ склали відповідно $(53 \pm 9) \% / (59 \pm 15) \%$ та $(32,9 \pm 3,2) \%$ (95 % ДІ: 26,9–74,4) / $(35,2 \pm 2,2) \%$ (95 % ДІ: 30,9–39,1), $p=0,3$. Проте виявлено негативний вплив локалізації метастатичних вогнищ КРР в ЦСП (рис. 5) на 3-річну безрецидивну виживаність, що склала $(37 \pm 12) \%$ та $(31 \pm 8) \%$ для хворих груп ПЛМ та ЦСП відповідно ($p=0,02$). Медіана безрецидивного виживання для груп ПЛМ та ЦСП склали відповідно $(27,4 \pm 2,5)$ міс. (95 % ДІ: 24,4–38,6) та $(18,3 \pm 2,9)$ міс. (95 % ДІ: 10,5–22,1), $p=0,02$.



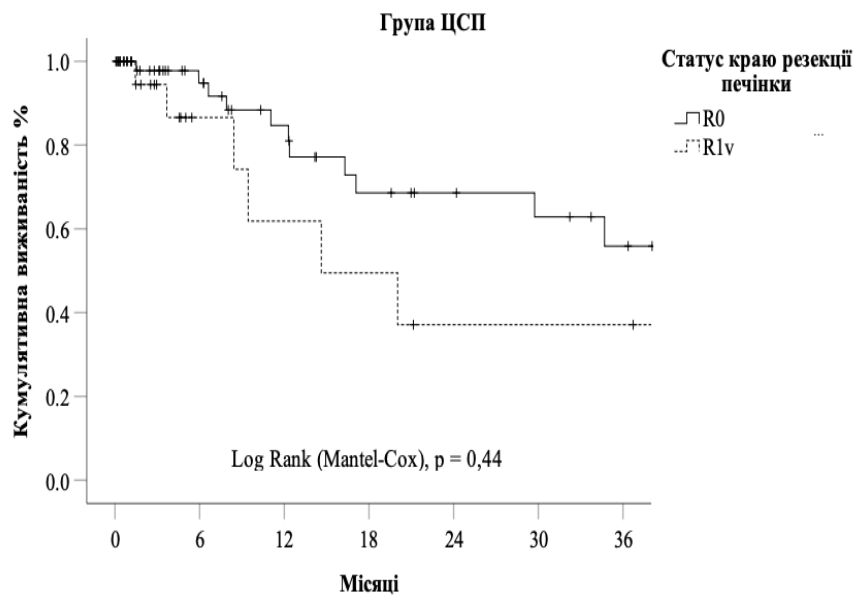
А



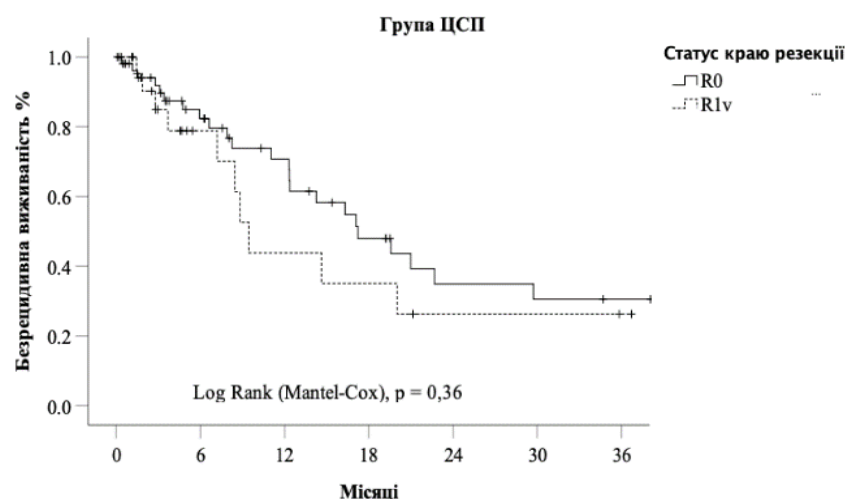
Б

Рис. 5. Загальна кумулятивна (А) та безрецидивна (Б) виживаність хворих на КРР у групах порівняння ЦСП ($n=78$) та ПЛМ ($n=107$) (Kaplan–Meier plot)

Хірургічний принцип інтрапаренхіматозної судинної скелетизації R1v використали у 24 (30,7 %) хворих із групи ЦСП та у 6 (5,6 %) у групі ПЛМ. Попередні результати демонструють задовільні показники виживаності при застосуванні стратегії скелетизації інтрапаренхіматозних судинних структур (R1v). Так, на рисунку 6 графічно представлено середні значення тривалості виживаності та медіана виживання за період спостереження в когортах R0/R1v групи ЦСП склали $(35,8 \pm 1,8)$ % (95 % ДІ: 16,4–39,9) / $(23 \pm 5,3)$ % (95 % ДІ: 12,8–33,7) та $(31,5 \pm 2,7)$ міс. (95 % ДІ: 7,4–39,9) / $(20,1 \pm 6,9)$ міс. (95 % ДІ: 6,3–33,7) відповідно ($p=0,44$).



А



Б

Рис. 6. Загальна кумулятивна (А) та безрецидивна (Б) виживаність хворих на КРР групи ЦСП, стратифікованих для когорт R0 ($n=54$) та R1v ($n=24$) (Kaplan–Meier plot)

Аналіз впливу хірургічної стратегії R1v судинної скелетизації показав референтні значення безрецидивного виживання хворих на КРР в групі ЦСП незалежно від статусу краю резекції: 3-річна безрецидивна виживаність для хворих із краєм резекції R1v/R0 склала відповідно $(25 \pm 13) \%$ / $(33 \pm 9) \%$ ($p=0,36$).

Медіана безрецидивного виживання для когорти R1v склала $(10,8 \pm 0,8)$ міс. (95 % ДІ: 7,8–1,1) та для R0 $(17,7 \pm 3,1)$ міс. (95 % ДІ: 11,2–23,4) відповідно, ($p=0,36$).

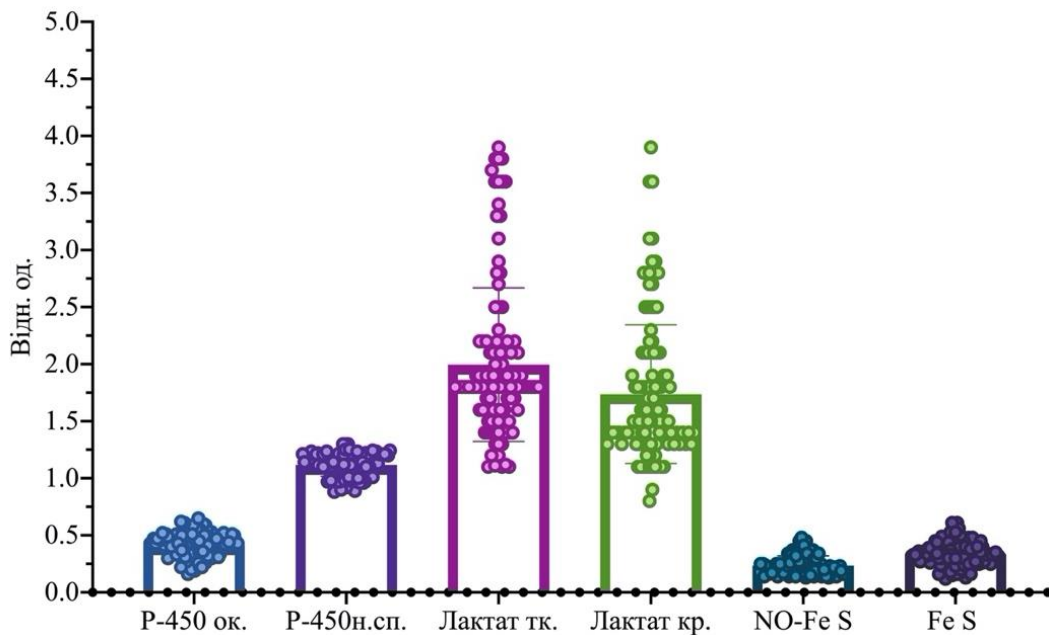
На основі отриманих даних можна стверджувати, що R1v скелетизація інтрапаренхіматозних судинних структур стала необхідним елементом багатофакторної стратегії хірургії печінки при метастатичному ураженні КРР. Оскільки математичний аналіз отриманих даних в рамках дисертаційної роботи показав, що статус краю резекції (R0/R1v) в одно- та багатофакторному аналізах не виявив достовірного впливу на виживаність ($X^2 = 3,77$ $p = 0,52$; (Exp. (B), 95% ДІ: $0,97$ ($0,45 \pm 2,07$) $p = 0,94$).

Враховуючи отримані дані, вважаємо за доцільне використовувати стратегію збереження паренхіми у випадках, що вимагають комплексного підходу як щодо хірургічних ризиків оперативного втручання, так і хіміотерапії.

За період проспективного дослідження з вивчення можливостей адаптації ПЗХ для метастатичних вогнищ в межах ЦСП аналізували вплив ППР на функціональний стан ЕТЛ мітохондрій (цитохром Р-450 (окиснена та низькоспінова форми), NO-FeS-білки) та маркери цитолізу і детоксикаційної функції гепатоцитів (АЛТ, БЛ) та лактат крові в тканині оперованої печінки). В аналіз увійшли 114 хворих на КРР, яким виконали резекції печінки за принципами ПЗХ.

Проведений аналіз продемонстрував, що рівні АЛТ та БЛ на передопераційному етапі перебували в межах норми: $(34,5 \pm 14,9)$ (6–69) од/л та $(12,4 \pm 5,2)$ (4–24) мкмоль/л відповідно. Динаміка рівнів загальної фракції БЛ в плазмі крові змінювалася з моменту виконання транссекції паренхіми на 1, 3 та 5 добу відповідно: $(18,4 \pm 5,8)$ (8–43) мкмоль/л; $(15,6 \pm 5,4)$ (4–36) мкмоль/л; $(12,5 \pm 4,4)$ (2–28) мкмоль/л. Середнє значення АЛТ на 1, 3 та 5 післяопераційну добу склало відповідно $(178,8 \pm 151,5)$ (26–72) од/л; $(135,3 \pm 111,7)$ (13–552) од/л; $(75,6 \pm 68,8)$ (431–68,8) од/л.

Оцінку ступеня гіпоксії та токсичного ураження визначали через рівень лактату в крові та тканині печінки, що склала відповідно $(1,8 \pm 0,6)$ та 0,8–3,9 ммоль/л та $(2,1 \pm 0,4)$ і 1,1–3,9 мкМ/г тканини (рис. 7).



Примітки: P-450 ок. – цитохром P-450 окиснена форма; P-450 н. сп. – цитохром P-450 низькоспінова форма; Лактат тк. – лактат в умовно здоровій тканині печінки; Лактат кр. – лактат у венозній крові; NO-FeS білки – залізо-сірчані білки; FeS – залізо-сірчані кластерні білки, (*Dot-plot* (сер. $\pm$ СП).

Рис. 7. Рівні молекулярних маркерів 114 оперованих хворих на КРР впродовж 1 год з моменту завершення транссекції паренхіми

Доведено, що зниження активності електронно-транспортних комплексів в електронно-транспортному ланцюгові (ЕТЛ) відбувається внаслідок взаємодії NO з FeS-білками ($g = 2,03$), рівень яких зростає, що відображається на спектрах ЕПР утворенням триплетної структури з $g = 2,007$, яка характерна для мітохондрій клітин злоякісних пухлин. Рівень генерування NO в умовно здоровій паренхімі оперованої печінки на етапі завершення транссекції склав $(0,99 \pm 0,30)$ $(0,07-1,77)$ нМ/г сирої тк. (фізіологічна норма рівня NO в тканинах печінки – $1,47$ нМ/г сирої тк.). Рівні FeS білків та NO-FeS білків в умовно здоровій паренхімі впродовж 1 год з моменту закінчення оперативного втручання склали $(0,32 \pm 0,06)$ та $0,13-0,48$ відн. од. і $(0,34 \pm 0,02)$ та $0,12-0,61$ відн. од. відповідно.

В результаті багатофакторного лінійного регресійного аналізу (табл. 4) з вивчення асоціативного зв'язку між тривалістю застосованої нормо-ішемії при ППР визначено стійкий негативний зв'язок тривалості нормо-ішемії печінки з рівнем низькоспінового цитохрому P-450 $(-44,26 \pm 13,97)$ (95 % ДІ: -72,01 до -16,52) та NO-модифікованих FeS білків $(-25,05 \pm 13,92)$ (95 % ДІ: -52,71 до 2,61). Позитивна та статистично значуща асоціація виявлена з рівнем лактату в тканині печінки $(9,90 \pm 4,30)$ (95 % ДІ: 1,36 до 18,43), FeS білків у тканині печінки $(67,95 \pm 18,26)$ (95 % ДІ: 31,66 до 104,2), трансаміазами АЛТ за 24 год $(0,09 \pm 0,02)$ (95 % ДІ: 0,05 до 0,15) та БЛ на 5 добу $(0,56 \pm 0,28)$ (95 % ДІ: 0,04 до 1,11).

Таблиця 4

Результат багатфакторної лінійної регресії визначення зв'язків між рівнем молекулярних маркерів відновлення функції оперованої печінки та тривалістю нормо-ішемії

Молекулярні маркери	Оцінка (Estimate) $\pm$ СП	95 % ДІ	p
Вільний коефіцієнт (<i>Intercept</i>)	23,21 $\pm$ 19,68	-15,89 до 62,32	0,24
Низькоспіновий цитохром Р-450*	-44,26 $\pm$ 13,97	-72,01 до -16,52	0,00
Окиснений цитохром Р-450*	-21,61 $\pm$ 14,40	-50,22 до 7,002	0,14
Лактат у венозній крові*	-2,88 $\pm$ 3,18	-9,19 до 3,436	0,37
Лактат у тканині печінки*	9,90 $\pm$ 4,30	1,36 до 18,43	0,02
FeS білки*	67,95 $\pm$ 18,26	31,66 до 104,2	0,00
NO-модифіковані FeS білки*	-25,05 $\pm$ 13,92	-52,71 до 2,61	0,08
АЛТ до резекції	-0,02 $\pm$ 0,08	-0,16 до 0,14	0,84
АЛТ 24 год	0,09 $\pm$ 0,02	0,05 до 0,15	0,00
АЛТ 3 доба	-0,03 $\pm$ 0,03	-0,09 до 0,03	0,30
АЛТ 5 доба	-0,04 $\pm$ 0,03	-0,09 до 0,03	0,24
БЛ до резекції	-0,12 $\pm$ 0,31	-0,74 до 0,52	0,71
БЛ 24 год	0,30 $\pm$ 0,26	-0,24 до 0,84	0,26
БЛ 3 доба	0,20 $\pm$ 0,31	-0,42 до 0,84	0,52
БЛ 5 доба	0,56 $\pm$ 0,28	0,04 до 1,11	0,05

Примітки: незалежна змінна для рівняння мультіваріаційної лінійної регресії – тривалість нормо-ішемії (хв). * – показники визначались через 1 год з моменту завершення трансекції паренхіми печінки.

В рамках дослідження визначали рівні швидкості генерування СР, активації родини желатиназ (ММП-2 та ММП-9), рівні швидкості генерування оксиду азоту (NO) та окисного пошкодження однієї з 5 основних азотистих основ ДНК, гуаніну (8-оксогуанін). Рівні СР, NO, ММП-2 та ММП-9 визначали безпосередньо в паренхімі печінки оперованих хворих, рівень 8-оксогуаніну визначали в сечі пацієнтів на першу, 3 та 5 післяопераційні доби.

Виконано аналіз рівня 8-оксогуаніну в сечі оперованих хворих на КРР до та після видалення метастазів в печінці. Аналіз отриманих даних показав, що видалення метастатичної тканини сприяє нормалізації рівня окисного пошкодження ДНК. Так, середній рівень досліджуваного маркера в нормі складає (0,244 $\pm$ 0,063) нМ/кг·добу, тоді як до лікування та на 3 добу після виконання резекції печінки з приводу її метастатичного ураження складав (2,97 $\pm$ 1,45) нМ/кг·добу та (2,12 $\pm$ 0,67) нМ/кг·добу ($p < 0,05$).

За результатом лінійної логістичної регресії вивчено ряд клінічних та хірургічних факторів впливу на рівень окисного пошкодження ДНК (8-оксогуаніну) і відповідно на онкологічний прогноз в оперованих хворих на КРР.

За результатами статистичної обробки, значущий вплив мали тільки об'єм метастатичної тканини в печінці ($B=(0,48 \pm 0,04)$, $p=0,037$), тривалість нормо-ішемії під час трансекції паренхіми печінки ($B=(0,35 \pm 0,02)$, $p=0,001$) та тривалість оперативного втручання ($B=(0,34 \pm 0,001)$, $p=0,006$).

Рівняння отриманої моделі лінійної регресії (формула 1):

$$\text{Рівень 8-оксогуаніну в сечі} = 1,253 + 0,483 \cdot V_{\text{mts}} + 0,342 \cdot t_{\text{резекції}} + 0,352 \cdot t_{\text{ішемії}}, \quad (1)$$

де $t_{\text{ішемії}}$ – тривалість нормо-ішемії під час трансекції паренхіми печінки;

$t_{\text{резекції}}$ – тривалість виконання оперативного втручання на печінці, хв;

V_{mts} – об'єм метастатичної тканини, розрахований за даними КТ-волюметрії, см^3 .

За рівнянням лінійної логістичної регресії впливу досліджуваних факторів на рівень окисного пошкодження ДНК визначено, що тривалість трансекції паренхіми печінки, нормо-ішемії під час виконання маневру Прінгла (МП) та об'єм метастатичної тканини в печінці є незалежними чинниками, які негативно впливають на рівень досліджуваного маркера. Зокрема, об'єм метастатичної тканини достовірно та прямопропорційно асоціювався з рівнем 8-оксогуаніну в сечі оперованих хворих ($R^2=0,54$ (95 % ДІ: 0,037–0,091)). Тривалість оперативного втручання та тривалість нормо-ішемії під час виконання хірургічних маніпуляцій достовірно підвищували рівень 8-оксогуаніну в сечі оперованих хворих ($R^2=0,54$, 95 % ДІ: 0,001–0,004 при $p < 0,001$).

Методом ЕПР в умовах низькотемпературної стабілізації ($T = 77\text{K}$) досліджено зразки метастатичної тканини, прилеглої та тканини печінки, відпрепарованої на відстані ≥ 5 см від метастазу (післяопераційний матеріал), оперованої при нормо-ішемії різного ступеня.

В спектрах ЕПР здорової тканини печінки виявляються сигнали ЕПР $g=1,94$, які характеризують стан ЕТЛ мітохондрій (залізо-сірчані білки Комплексу I, НАДН-дегідрогенази 1a); сигнал ЕПР $g=2,00$ – рівень флаво-убісемініону, основного переносника електронів в ЕТЛ; сигнал ЕПР з $g=2,03$ – рівень комплексів NO FeS-білок; сигнал ЕПР з $g=2,25$ і $g=2,42$ – рівень активності цитохрому P-450 (CYP) в редокс-циклі системи детоксикації гепатоцитів; сигнал ЕПР з $g=2,65$ – рівні вільного заліза; сигнал ЕПР з $g=4,25$ – рівень лактоферину, трансферину, і які функціонують у процесі окисного метаболізму в мітохондріях (рис. 8).

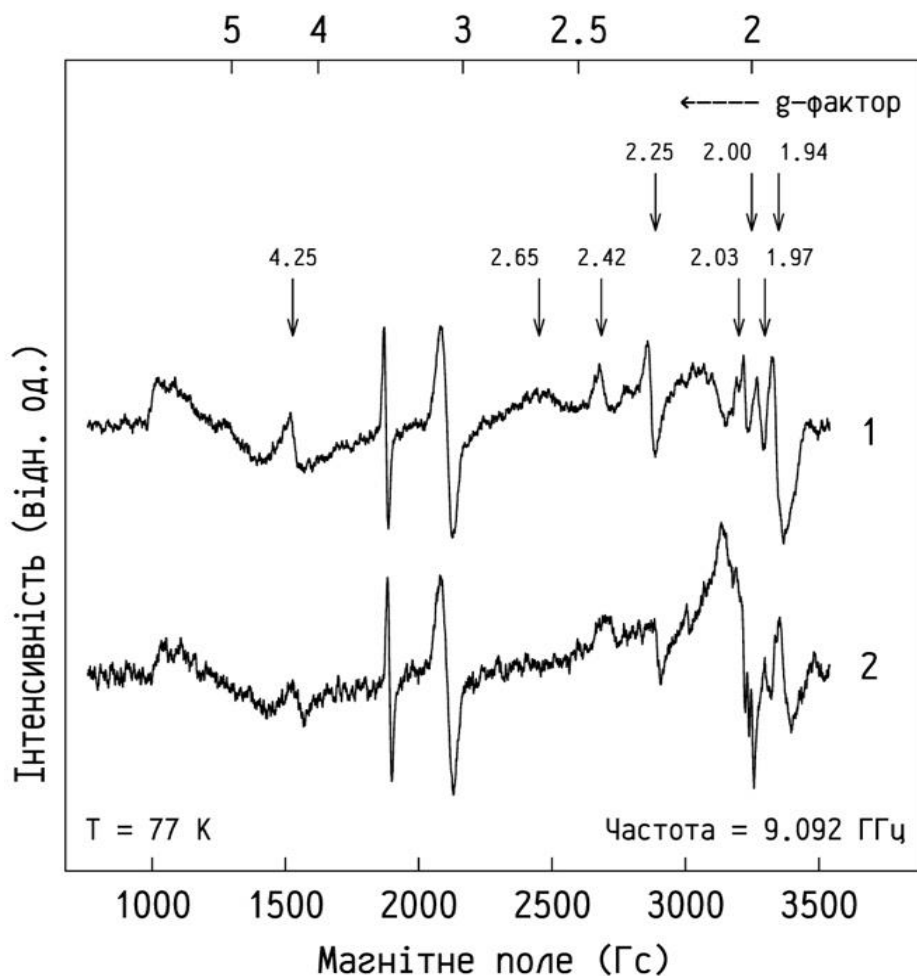
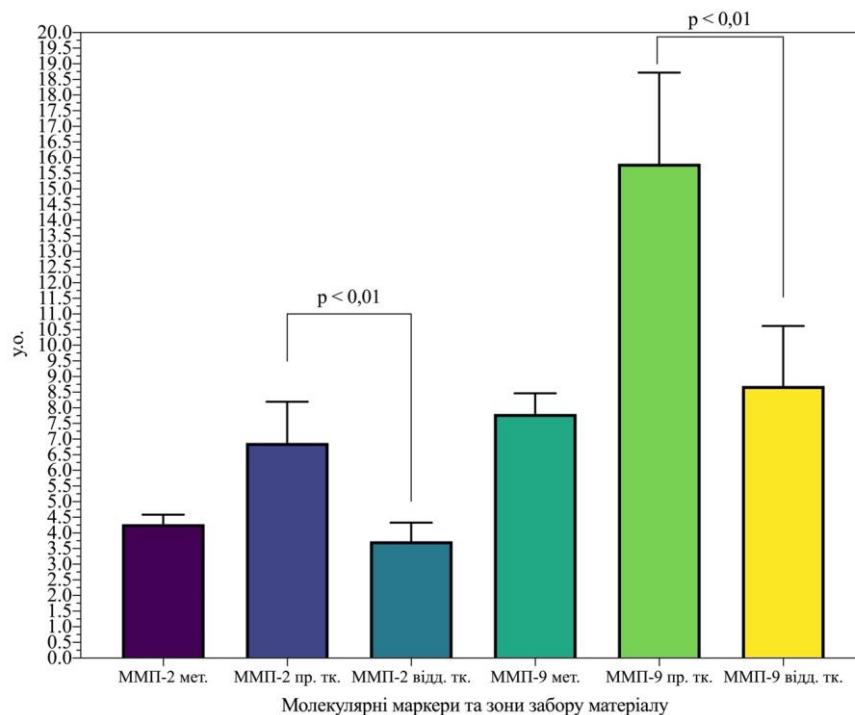


Рис. 8. Спектри ЕПР тканини: 1 – умовно здорової печінки; 2 – ішемізованої печінки впродовж 1 год з моменту завершення трансекції паренхіми

Виявлено достовірно значущу відмінність за швидкістю генерування СР між показниками у прилеглій до метастазу паренхімі печінки – $(1,09 \pm 0,19)$ $(0,10-0,18)$ нмоль/г сирої тк.·хв) та віддаленій, умовно здоровій тканині оперованої печінки – $(0,36 \pm 0,03)$ $(0,31-0,40)$ нмоль/г сирої тк.·хв), $p < 0,01$.

Найвищі показники деструкції позаклітинного матриксу спостерігаються на межі інвазії метастатичних вогнищ в оточуючу тканину печінки, що свідчить про важливу роль желатиназ у створенні метастатичного мікрооточення, які шляхом протеолітичного розщеплення потенціюють пухлинний ріст та метастазування. Зокрема, зареєстрували активність ММП-2 в прилеглій тканині печінки до метастазу та віддаленій паренхімі оперованої печінки, що склала відповідно $(6,88 \pm 1,31)$ $(5,12-9,82)$ у. о. та $(3,73 \pm 0,60)$ $(2,26-4,70)$ у. о., $p < 0,01$ (рис. 9). Активність ММП-9 в прилеглій тканині була на рівні $(15,81 \pm 2,91)$ $(11,34-19,88)$ у. о., тоді як в умовно здоровій віддаленій паренхімі склала $(8,70 \pm 1,92)$ $(5,18-12,88)$ у. о., $p < 0,01$.



Примітки: мет. – метастатична тканина; пр. тк. – прилегла тканина; відд. тк. – віддалена тканина, (*Column bar graph*, ($CP \pm CP$)).

Рис. 9. Активність ММП-2 та ММП-9

Поглиблення гіпоксії за тривалої нормо-ішемії, яка супроводжується видаленням метастатичного вогнища, призводить до істотного зростання активності гіпоксія-залежних ферментів та надвисоких рівнів деструкції тканини печінки та, вірогідно, інших тканин організму, про що свідчать високі показники активності желатиназ.

Результат багатофакторного лінійного рівняння (табл. 5) показав сильний та позитивний вплив тривалої нормо-ішемії на рівень СР відд. тк. – ($55,96 \pm 25,26$) (5,84 до 106,1), $p = 0,03$; желатинази ММП-2 пр. тк. – ($3,29 \pm 1,63$) (0,074 до 6,52) $p = 0,05$; желатинази ММП-9 пр. тк. – ($3,68 \pm 2,1$) (-0,63 до 7,97), $p = 0,09$ та 8-оксогуаніну в добовій сечі – (1 п/о доба) ($4,58 \pm 1,45$) (1,71 до 7,46), $p = 0,001$.

Таблиця 5

Результат багатофакторної лінійної регресії визначення зв'язків між рівнями молекулярних маркерів редокс-статусу пухлини та онкологічного впливу нормо-ішемії при резекціях печінки

Молекулярні маркери, n=114	Оцінка (Estimate) $\pm$ СП	95 % ДІ	p
1	2	3	4
Вільний коефіцієнт (<i>Intercept</i>)	-108,70 $\pm$ 53,58	-214,9 до -2,37	0,05
СР мет.	1,29 $\pm$ 11,61	-21,75 до 24,33	0,91
СР пр. тк.	-6,31 $\pm$ 6,44	-19,09 до 6,47	0,33
СР відд. тк.	55,96 $\pm$ 25,26	5,84 до 106,1	0,03
ММП-2 мет.	1,26 $\pm$ 8,47	-15,54 до 18,06	0,88

Продовження табл. 5

1	2	3	4
ММП-2 пр. тк.	$3,29 \pm 1,63$	0,074 до 6,52	0,05
ММП-2 відд. тк.	$1,72 \pm 4,21$	-6,64 до 10,06	0,68
ММП-9 мет.	$0,32 \pm 1,48$	-2,62 до 3,25	0,83
ММП-9 пр. тк.	$3,68 \pm 2,16$	-0,63 до 7,97	0,09
ММП-9 відд. тк.	$2,17 \pm 1,54$	-0,87 до 5,22	0,16
NO відд. тк.	$5,53 \pm 8,33$	-10,99 до 22,06	0,51
8-оксогуанін в добовій сечі (1 п/о доба)	$4,58 \pm 1,45$	1,71 до 7,46	0,001

Примітки: незалежна змінна для рівняння мультиваріаційної лінійної регресії – тривалість нормо-ішемії (хв): СР мет. – супероксид в метастатичній тканині; СР пр. тк. – супероксид у прилеглій паренхімі; СР відд. тк. – супероксид у віддаленій паренхімі; ММП-2 мет. – ММП-2 в метастатичній тканині; ММП-2 пр. тк. – ММП-2 у прилеглій до метастазу паренхімі; ММП-2 відд. тк. – ММП-2 у віддаленій паренхімі; ММП-9 мет. – ММП-9 в метастатичній тканині; ММП-9 пр. тк. – ММП-9 у прилеглій паренхімі; ММП-9 відд. тк. – ММП-9 у віддаленій паренхімі; NO відд. тк. – NO у віддаленій від метастазу паренхімі.

З метою виявлення і встановлення рівня взаємозв'язку між показниками досліджуваних маркерів та тривалістю нормо-ішемії, використали коефіцієнт кореляції Пірсона. Отримані результати графічно представлені на рисунку 10.

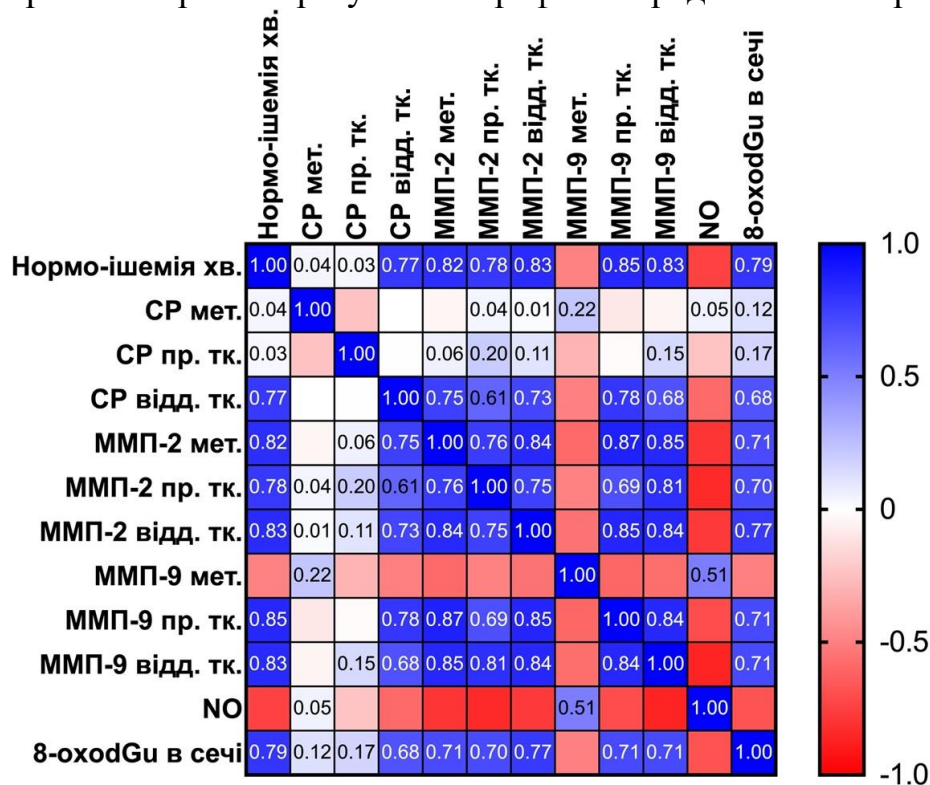


Рис. 10. Кореляції Пірсона для досліджуваних молекулярних маркерів (Heat map)

Так, нормо-ішемія печінки під час виконання транссекції мала слабку та позитивну кореляцію з рівнем СР мет. ($r=0,04$) та рівнем СР пр. тк. ($r=0,03$). Сильний та позитивний корелятивний зв'язок був між тривалістю ішемії та СР відд. тк. ($r=0,77$), ММП-2 мет. ($r=0,82$), ММП-2 пр. тк. ($r=0,78$), ММП-2 відд. тк. ($r=0,83$), ММП-9 пр. тк. ($r=0,85$), ММП-9 відд. тк. ($r=0,83$) та рівнем 8-оксогуаніну ($r=0,79$). Негативна кореляція була встановлена з рівнем NO в паренхімі печінки та ММП-9.

Враховуючи статистичну достовірність та високий рівень кореляційного зв'язку між окремими молекулярними маркерами, виконали додатковий аналіз серед 114 хворих проспективного дослідження, стратифікуючи дані за тривалістю нормо-ішемії. Група розподілена на когорти хворих, які були оперовані без застосування МП (нормо-ішемія 0 хв, 46 (40,4 %), тривалість нормо-ішемії не перевищувала 45 хв (36 (31,6 %), та тих, де ішемія склала ≥ 45 хв (32 (28 %).

Такий розподіл використали, враховуючи дані регресійного аналізу за Коксом, що продемонстрував достовірну відмінність виживаності серед груп оперованих хворих на КРР залежно від тривалості нормо-ішемії. Було показано, що швидкість генерування СР відд. тк. для когорт 0 хв; < 45 хв та ≥ 45 хв перебувала відповідно у межах ($0,29 \pm 0,05$) ($0,21-0,36$); ($0,37 \pm 0,02$) ($0,36-0,39$) та ($0,43 \pm 0,05$) ($0,35-0,49$).

Рівень ММП-2 пр. тк. склав ($6,12 \pm 0,32$) ($5,21-7,21$); ($6,23 \pm 0,04$) ($6,16-6,32$) і ($8,749 \pm 1,064$) ($6,13-9,83$) для хворих із тривалістю нормо-ішемії печінки відповідно 0 хв; < 45 хв та ≥ 45 хв.

Показники рівня молекулярного маркера ММП-9 пр. тк. змінювались в когортах 0 хв; < 45 хв та ≥ 45 хв відповідно ($12,56 \pm 0,53$) ($11,34-14,35$); ($16,88 \pm 0,97$) ($12,64-18,66$); $19,26 \pm 0,46$ ($17,95-19,88$). Показники 8-оксогуаніну в добовій сечі (1 п/о доба) склали відповідно ($2,23 \pm 0,55$) ($1,12-2,9$); ($2,93 \pm 0,31$) ($2,1-3,77$) та ($4,51 \pm 1,32$) ($1,92-6,77$).

Середнє значення різниці показників молекулярних маркерів (СР відд. тк., ММП-2 пр. тк., ММП-9 пр. тк., 8-оксогуаніну) в групах хворих на КРР, де транссекція вимагала сумарну тривалість нормо-ішемії ≥ 45 хв, проти когорти 0 хв, склала 2,95 ($2,79-3,12$), при $p < 0,01$. Разом з тим, була виявлена статистично значуща відмінність між групами хворих, де транссекція вимагала сумарну тривалість нормо-ішемії ≥ 45 хв та < 45 хв ($1,64$ ($1,46-1,81$) $p < 0,01$).

Підсумовуючи, необхідно зазначити, що результати власного проспективного дослідження демонструють наявність негативного впливу ППР і нормо-ішемії на онкологічний та загальний прогноз оперованих хворих на КРР. ПЗХ резекції печінки з приводу метастатичного ураження КРР є найбільш перспективним методом контролю перебігу захворювання. Проте, хірургія цього органа в більшості випадків супроводжується використанням МП та створенням зон ППР. Теорія підвищення ризику рецидиву чи прогресування онкологічного захворювання після резекції зустрічається в літературі вже тривалий час, проте їй досі немає адекватного пояснення чи виправдання. Ми дослідили цей феномен з точки зору функціонування ЕТЛ мітохондрій

гепатоцитів різних зон печінки, та показали, що середні показники виживаності оперованих хворих залежать від рівня СР (СР відд. тк.) в умовно здоровій паренхімі оперованих хворих на КРР. 3-річна кумулятивна виживаність (рис. 11), стратифікована за рівнем СР відд. тк. ($< 0,39$ та $\geq 0,39$ нмоль/г сирові тк.·хв), склала відповідно $(41 \pm 12) \%$ та $(10 \pm 0,9) \%$; медіана для аналогічних груп перебувала в межах $(40,3 \pm 4,2)$ (32,2–48,4) міс. та $(7,4 \pm 5,6)$ (0–18,5) міс. ($p=0,012$).

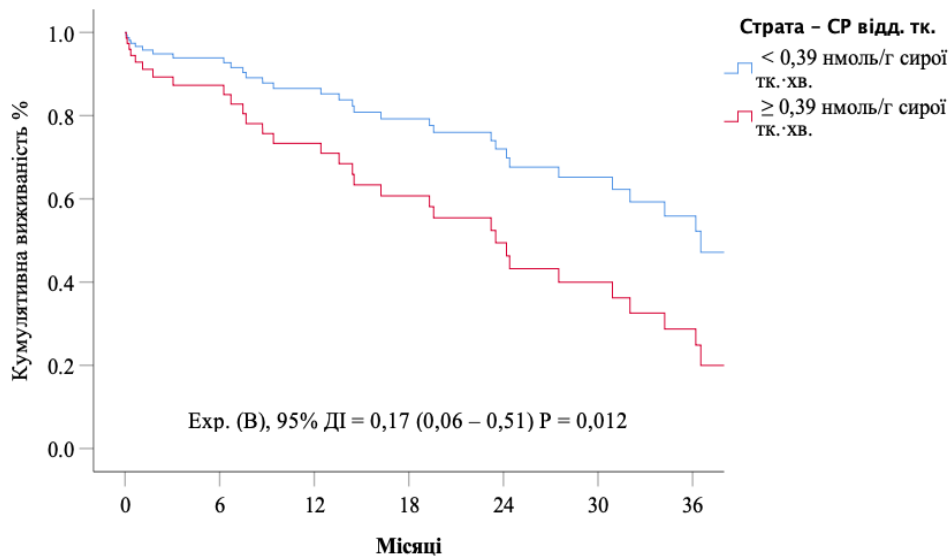
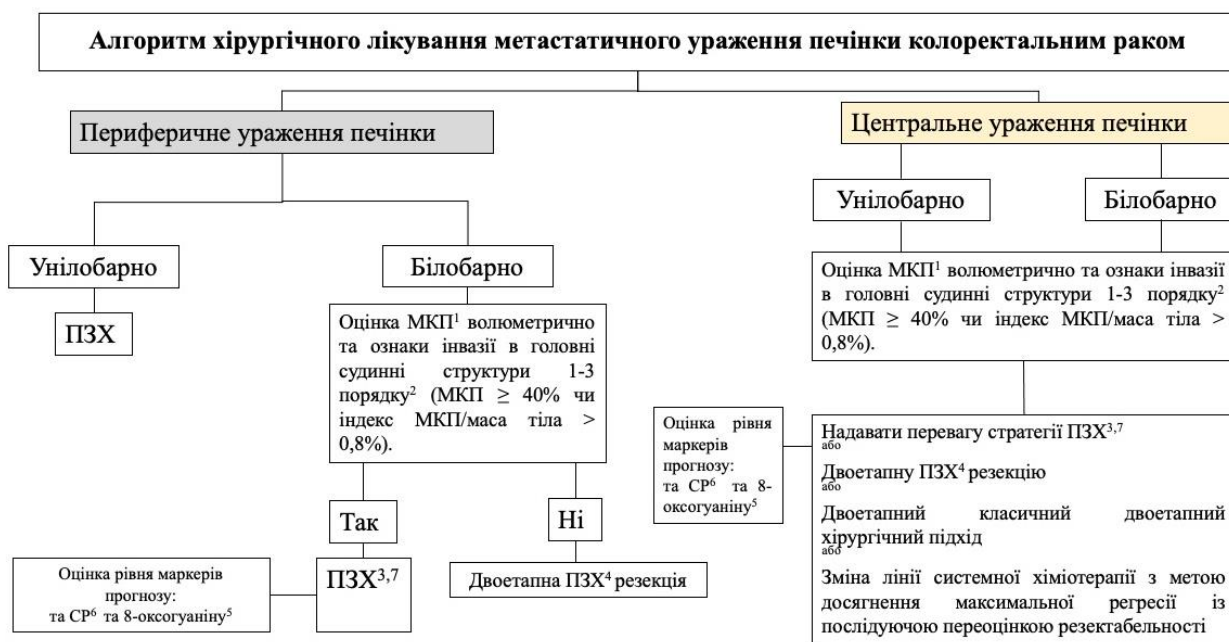


Рис. 11. Загальна кумулятивна виживаність (середнє значення) в групах порівняння, страта – швидкість генерування СР відд. тк. ($< 0,39$ та $\geq 0,39$ нмоль/г сирові тк.·хв), (Cox regression plot)

Отже, КРР характеризується широким спектром клініко-лабораторних характеристик, таких як генетичні, епігенетичні порушення, та компонентів мікрооточення. Проте, допоки неможливо виокремити універсальні критерії, які дозволять виконати персоніфіковане лікування або дати точний прогноз перебігу цього тяжкого захворювання. Золотим стандартом при метастатичному ураженні печінки КРР є повне видалення усіх метастатичних вогнищ.

Адаптація ПЗХ (рис. 12) має найбільший потенціал для розвитку та впровадження в умовах сучасної медицини. Однак, $> 50 \%$ оперованих хворих мають повторне метастатичне ураження печінки, що пов'язано з біологією метастазування та вивільненням медіаторів запалення, зокрема цитокінів, СР та молекул адгезії під час ПР, які стимулюють ріст «мінімальної залишкової хвороби». ПР, яка виникає при резекціях печінки, є складним багатоступеневим та небезпечним процесом, який необхідно враховувати при плануванні оперативного лікування. Пошук сигнальних молекул, які активовані або інгібовані у клітинах КРР, є важливим і актуальним завданням фундаментальних досліджень з метою експериментального обґрунтування нових підходів у лікуванні хворих на КРР.



Примітки:

1. МКП – майбутня культя печінки.
2. Оцінюються рентгенологічні ознаки пухлинної інвазії в головні вени та глісонові одиниці 1–3 порядку.
3. Рекомендована сумарна тривалість нормо-ішемії під час маневру Прінгла ≤ 45 хв.
4. За відсутності чітких даних резектабельності (комплексні клінічні випадки тощо) рекомендовано розділяти ПЗХ на 2 хірургічних етапи.
5. Молекулярний маркер окисного пошкодження ДНК визначається в добовій сечі в оперованих хворих на 1–2 добу після операції.
6. Молекулярний маркер СР визначається в тканині умовно здорової оперованої печінки, забір матеріалу здійснюється периопераційно.
7. Надавати перевагу судинній скелетизації магістральних судинних структур 1–3 порядку за принципами R1v (при відсутності рентгенологічних даних інвазії пухлини в зоні судинного контакту).

Рис. 12. Алгоритм адаптації програми ПЗХ для хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено наукове обґрунтування та нове вирішення актуальної для сучасної медицини, зокрема онкології, проблеми – поліпшення безпосередніх та віддалених результатів лікування у хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки шляхом адаптації паренхімозберігаючої хірургії, розробки та використання редокс-залежних предикторів пухлинного прогресування.

1. Експериментальним дослідженням *in vivo* доведено, що патологічний ефект ішемії-реперфузії потенційно сприяє пухлинному росту шляхом активації порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій та окисно-індукованому пошкодженню ДНК. Швидкість генерування супероксидних радикалів в паренхімі печінки мишей C57BL для груп А, В1, В2 та контролю склала відповідно $(1,6 \pm 0,4)$, $(3,02 \pm 0,49)$, $(2,4 \pm 0,58)$ та $(0,22 \pm 0,05)$ нмоль/г сирової тканини, ($p < 0,05$). А рівень 8-оксогуаніну у паренхімі печінки мишей C57BL в групах А, В1, В2 та контрольній склав відповідно $(1,85 \pm 0,71)$, $(2,25 \pm 0,64)$, $(1,1 \pm 0,5)$ та $(0,25 \pm 0,05)$, ($p < 0,05$).

2. Встановлено, що інтраперитонеальне застосування нанодоз спротивредуючих полімерів дозволяє попередити ріст карциноми Герена у печінці щурів Wistar, що проявляється у зниженні ступеня пухлинного заміщення паренхіми середньої долі печінки в групі W2 СД $(29 \pm 9,2) \%$ порівнюючи із групами W1 СД $(44,9 \pm 6,2) \%$, та W СД $(22,8 \pm 5,3) \%$, ($p < 0,05$).

3. В результаті проведення порівняльного ретроспективного аналізу найближчих та віддалених результатів лікування хворих на метастатичний колоректальний рак встановлено перевагу застосування атипових резекцій печінки перед анатомічно-орієнтованими резекціями. Виявлено достовірну відмінність за рівнем післяопераційних тяжких ускладнень $(31 (21,4 \%), 6 (4,2 \%),$ та смертності $(13 (9,0 \%), 2 (1,4 \%)$ відповідно для груп анатомічно-орієнтованих та атипових резекцій печінки ($p < 0,05$). П'ятирічна загальна виживаність склала відповідно $(33 \pm 6) \%$ та $(40 \pm 5) \%$, ($p=0,03$).

4. Розроблено онкологічно ефективну та безпечну стратегію паренхімозберігаючої хірургії у хворих на метастатичний КРР із ураженням центральних сайтів печінки. Тяжкі післяопераційні ускладнення в групах центральних сайтів печінки та периферично локалізованих метастазів склали відповідно $24,4 \%$ та $21,8 \%$, ($p=0,15$), а загальна 3-річна виживаність – $(53 \pm 9) \%$ та $(59 \pm 15) \%$, ($p=0,3$).

5. Визначено, що R1v судинна скелетизація стала необхідним компонентом паренхімозберігаючої стратегії, яка нівелювала необхідність виконання великих резекцій печінки $(10,3 \%$ випадків), а 3-річна безрецидивна виживаність при R1v та R0 в групі центральних сайтів печінки склала $(25 \pm 13) \%$ та $(33 \pm 9) \%$ відповідно, ($p=0,36$). Показано негативний вплив розташування метастатичних вогнищ КРР в центральних сайтах печінки (3-річна безрецидивна виживаність в групах периферично локалізованих метастазів та центральних сайтів печінки склала відповідно $(37 \pm 12) \%$ та $(31 \pm 8) \%$, $p=0,02$).

6. Виявлено, що в оперованій умовно здоровій паренхімі печінки відбувається зниження функціонування системи детоксикації та енергозабезпечення гепатоцитів: рівні низькоспінової $(1,13 \pm 0,14)$ у.о. та окисненої $(0,34 \pm 0,08)$ у.о. форм цитохрому Р-450 були достовірно нижчими за фізіологічну норму $(2,56 \pm 0,03)$ та $(0,59 \pm 0,03)$ у.о. відповідно ($p < 0,05$). В гепатоцитах реєструється перепрограмування метаболізму мітохондрій

з окисного фосфорилування на гліколіз, наслідком чого є формування клітинної гіпоксії: рівні лактату в крові та тканині печінки на етапі завершення трансекції паренхіми перевищували фізіологічну норму та склали відповідно $(1,8 \pm 0,6)$ ммоль/л та $(2,1 \pm 0,4)$ мкМ/г тк., ($p < 0,05$).

7. Доведено, що нормо-ішемія тривалістю ≥ 45 хв потенціює порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій і корелює з вираженими порушеннями функціонування гепатоцитів. Кінцевий результат багатофакторної лінійної регресії показав наявність стійкого негативного зв'язку тривалості нормо-ішемії печінки із рівнем низькоспінового цитохрому Р-450 (OR: $-44,26 \pm 13,97$, $p < 0,001$) та FeS білків (OR: $-25,05 \pm 13,92$), ($p < 0,001$).

8. Встановлено, що формування метастатичного мікрооточення в печінці забезпечується генеруванням супероксидних радикалів та NO-активацією жалатиназ ММП-2, що ремоделюють міжклітинний матрикс у паренхімі оперованої печінки. Швидкість генерування супероксидних радикалів в прилеглій до метастазу та віддаленій паренхімі печінки склала $(1,09 \pm 0,19)$ нмоль/г сирої тк.·хв та $(0,36 \pm 0,03)$ нмоль/г сирої тк.·хв, ($p < 0,01$). Активність ММП-2 в прилеглій до метастазу та віддаленій умовно здоровій паренхімі оперованої печінки склала відповідно $(6,88 \pm 1,31)$ у. о. та $(3,73 \pm 0,60)$ у. о., ($p < 0,01$).

9. Показано, що тривалість нормо-ішемії та патологічного ефекту ішемії-реперфузії під час трансекції паренхіми печінки корелює з рівнем активності редокс-залежних молекулярних маркерів. One-way ANOVA аналіз визначив достовірну відмінність за середніми значеннями показників молекулярних маркерів (швидкість генерування супероксидних радикалів в умовно здоровій паренхімі, активність ММП-2 і ММП-9 в прилеглій тканині та рівень 8-оксогуаніну в добовій сечі) між когортами хворих, де тривалість нормо-ішемії, складала < 45 хв та ≥ 45 хв ($R^2 = 0,93$, $F = 786,0$, середнє значення різниці: 1,64, 95 ДІ % (1,46–1,81), $p < 0,01$).

10. Доведено, що рівень швидкості генерування супероксидних радикалів у паренхімі оперованої печінки є незалежним прогностичним фактором виживаності при КРР. 3-річна кумулятивна виживаність в когортах хворих, що стратифікували за швидкістю генерування супероксидних радикалів мітохондріями гепатоцитів в умовно здоровій паренхімі печінки ($< 0,39$ та $\geq 0,39$ нмоль/г сирої тк.·хв), склала відповідно (41 ± 12) % та $(10 \pm 0,9)$ %, ($p = 0,012$).

11. Розроблено та впроваджено в практику алгоритм хірургічного лікування хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки на основі адаптації принципів паренхімозберігаючої хірургії для центральних сайтів органа, молекулярних маркерів прогнозування функціонального статусу гепатоцитів оперованої паренхіми печінки та редокс-залежних маркерів онкологічного прогнозу.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. На етапах планування хірургічної стратегії хворих на КРР із метастатичним ураженням центральних сайтів печінки доцільно надавати пріоритет виконанню ПЗХ хірургії.

2. При виявленні судинного контакту та за відсутності рентгенологічних та клінічних ознак судинної інвазії метастатичного вогнища слід розглядати, в рамках мультидисциплінарної комісії та при обговоренні з пацієнтами, стратегію R1v скелетизації інтрапаренхіматозних судинних структур печінки. Стратегія R1v скелетизації демонструє задовільні онкологічні результати (3-річна безрецидивна виживаність при R1v та R0 в групі ЦСП склала $(25 \pm 13) \%$ та $(33 \pm 9) \%$ відповідно, $p=0,36$).

3. Для оцінки прогнозу виживаності хворих на КРР із метастатичним процесом в печінці доцільно проводити вимірювання швидкості генерування СР в умовно здоровій паренхімі. Якщо швидкість генерування СР $\geq 0,39$ нмоль/г сирові тк.·хв, ризик неконтрольованого пухлинного прогресування зростає.

4. Доцільно виконувати трансекцію паренхіми печінки в умовах нормо-ішемії при маневрі Прінгла < 45 хв, оскільки тривалість нормо-ішемії ≥ 45 хв достовірно підвищує середнє значення молекулярних маркерів редокс-статусу (СР відд. тк., ММП-2 пр. тк., ММП-9 пр. тк., 8-оксогуаніну), $(1,64 (95 \% ДІ:1,46-1,81), p < 0,01)$.

5. Досліджені показники редокс-статусу оперованої печінки можуть бути використані для оцінки функціонального стану органів та тканин віддаленого метастазування, ризиків виникнення рецидивів онкологічних захворювань та удосконалення терапевтичних підходів.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Burlaka AA, Paliichuk AV, Iatsyna OI, Kolesnik OO. Colorectal cancer liver metastases within the central and peripheral segments: Parenchymal sparing surgery adaptation. Ann. Med. Surgery. 2020 Oct;58:8–13. doi: 10.1016/j.amsu.2020.07.052. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

2. Burlaka AA, Kolesnik OO. Parenchyma sparing multicomponent liver resection strategy for multiple bilobar synchronous colorectal cancer metastasis. Clin. Case Rep. 2020 Feb 26;8(4):661–6. doi: 10.1002/ccr3.2742. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, обстеження та підготовка оперованих хворих, планування та виконання резекцій печінки усіх, включених в аналіз, хворих, написання статті.)*

3. Burlaka AA, Burlaka AP, Krotevych MS, Rudiuk TO, Orel VE. Drag reducing polymers attenuate adverse effects of ischemia-reperfusion upon resection of liver metastases modeled by MC38 mouse colon adenocarcinoma. *Exp. Oncol.* 2020 Mar;42(1):46–50. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-1.14095. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, планування експерименту та виконання операцій на тваринах, написання статті.)*

4. Бурлака АА. Паренхімозберігаюча стратегія при метастатичному ураженні печінки: когортне проспективне дослідження. *Клін. онкологія.* 2020;10(37–38):70–6. doi: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.37-1.27049.

5. Vasiliev O, Burlaka A, Dorozhynskiy V, Kolesnik O. Resection and simultaneous reconstruction of the infrarenal aorta and inferior vena cava – case report. *Pol. Przegl. Chir.* 2019 Mar 13;91(3):43–6. doi: 10.5604/01.3001.0013.1031. *(Особистий внесок: виконано етап операції, аналіз літературних даних, написання та оформлення статті.)*

6. Burlaka AA. Adipose tissue and its role in microenvironment of the colorectal adenocarcinoma cancer cell. *Int. J. Medicine and Medical Research.* 2019;5(1):26–32. doi: <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.1.9819>.

7. Burlaka AA, Vovk AV, Burlaka AP, Kolesnik OO. DNA oxidation in patients with metastatic colorectal cancer: clinical significance of 8-hydroxydeoxyguanosine as an independent prognostic factor. *Exp. Oncol.* 2019 Mar;41(1):26–31. *(Особистий внесок: обстеження та підготовка оперованих хворих, планування та виконання резекцій печінки усіх, включених в аналіз, хворих, написання та оформлення статті.)*

8. Burlaka AP, Ganusevich II, Burlaka AA, Virko SV, Kolesnik OO. Tumor-associated redox state in metastatic colorectal cancer. *Exp. Oncol.* 2019 Jun;41(2):148–52. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-2.13128. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

9. Burlaka AP, Burlaka AA, Virko SV, Ganusevich II. Molecular mechanisms of oxidation damage and liver cell dysfunction in patients with metastatic colorectal cancer. *Exp. Oncol.* 2019 Dec;41(4):328–34. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-4.13796. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

10. Бурлака АА. Планування розширених резекцій печінки. *Онкологія.* 2019;21(2):153–8.

11. Бурлака АА, Палійчук АВ, Чуканов ОМ, Шудрак АА, Яцина ОІ, Колеснік ОО. Технічні аспекти виконання анатомічної розширеної резекції 2-го сегмента печінки із резекцією лівої печінкової вени: клінічний випадок. *Онкологія.* 2019;21(4):337–40. *(Особистий внесок: обстеження та підготовка оперованого хворого, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

12. Бурлака АА. Хірургічна тактика при неколоректальних та ненейроендокринних метастатичних ураженнях печінки. Клін. онкологія. 2019;9(33):22–5.

13. Бурлака АА, Вовк АВ, Звірич ВВ, Бурлака АП, Ганусевич П, Вірко СВ, Колеснік ОО. Жирова тканина та її роль у мікрооточенні клітин аденокарциноми колоректального раку. Клін. онкологія. 2019;9(33):30–3. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, написання окремих розділів статті.)*

14. Звірич ВВ, Бурлака АА, Колеснік ОО, Михайлович ЮЙ. Прогностичне значення біомаркера окисного пошкодження ДНК (8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину) для визначення ефективності використання неoad'ювантної хіміопроменевої терапії у хворих на місцево-поширений рак прямої кишки. Клін. онкологія. 2019;9(34):119–22. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, написання окремих розділів статті.)*

15. Burlaka AP, Vovk AV, Burlaka AA, Gafurov MR, Iskhakova KB, Lukin SN. Rectal cancer: redox state of venous blood and tissues of blood vessels from electron paramagnetic resonance and its correlation with the five-year survival. BioMed. Res. Int. 2018 Aug;2018:4848652. doi: 10.1155/2018/4848652. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

16. Бурлака АП, Вовк АВ, Бурлака АА, Звірич ВВ, Лукін СМ, Вірко СВ. Метаболізм прилеглої до пухлини жирової тканини та маса тіла хворих на колоректальний рак III–IV стадії. Онкологія. 2018;20(3):206–11. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, написання статті.)*

17. Колеснік ОО, Бурлака АА. Нові аспекти застосування глісонового методу мобілізації воріт печінки в хірургічному лікуванні метастатичного колоректального раку. Клін. хірургія. 2018;85(8):58–61. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

18. Бурлака АА, Черная НС, Колесник ЕА. Ишемия – фактор онкологического прогноза у пациентов с метастатическим колоректальным раком при больших резекциях печени. Евразийский онкол. журн. 2018;6(2):608–13. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

19. Лісний П, Лазарева ОА, Онищенко АК, Закальська ХА, Катриченко МО, Бурлака АА. Вплив L-орнітину-L-аспартату на деякі показники функції печінки в пацієнтів після резекції печінки. Медицина невідкладних станів. 2018;2(89):63–8. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних.)*

20. Бурлака АА, Лісний П, Рудюк ТО, Хворостовський РР, Колеснік ОО. Врахування анатомії борозни Рув'є в хірургії печінки у хворих на метастатичний колоректальний рак. Клін. онкологія. 2018;8(31):197–200. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

21. Колеснік ОО, Бурлака АА, Звірич ВВ, Чуканов ОМ, Гого-Абіте А. Стратегія хірургічного лікування білобарного метастатичного ураження печінки при колоректальному раку. Онкологія. 2018;20(4):275–80. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

22. Орел ВЕ, Бурлака АА, Рихальський ОЮ, Нестеренко АО, Стегній ВВ, Колеснік ОО. Комп'ютерне планування електромагнітного опромінення у хворих на метастатичний колоректальний рак із метакронним ураженням печінки. Лучевая диагностика. Лучевая терапия. 2018;2:12–8. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

23. Колеснік ОО, Бурлака АА, Васильєв ОВ, Тіунова ІА. Ішемічно-реперфузійне пошкодження печінки та його профілактика при великих резекціях печінки (огляд літератури.) Клін. онкологія. 2018;8(29):11–7. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, написання статті.)*

24. Burlaka A, Zvirych V, Dorozhinskiy V, Vasiliev O, Vovk A, Orel V, Kolesnik O. Metabolic changes from liver regeneration after metastatic colorectal cancer surgery. Nowotwory J. Oncology. 2017 Oct;67(2):121–6. doi: 10.5603/NJO.2017.0019. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, обстеження, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

25. Бурлака АП, Вовк АВ, Ганусевич П, Бурлака АА, Лукін СМ, Вірко СВ. Супероксид- та NO-залежні механізми ініціації формування метастатичного мікрооточення віддалених сайтів метастазування у хворих на колоректальний рак. Онкологія. 2017;19(1):64–70. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, планування та виконання резекцій печінки, написання статті.)*

26. Бурлака АА, Васильєв ОВ, Звірич ВВ, Колеснік ОО. Десятирічний досвід виконання резекцій печінки. Онкологія. 2017;19(2):137–40. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, написання статті.)*

27. Колеснік ОО, Бурлака АА, Васильєв ОВ, Звірич ВВ, Дорожинський ВІ, Вовк АВ, Бабак ЛВ. Молекулярні предиктори відновлення функції печінки у хворих, оперованих з приводу метастатичного колоректального раку. Клін. хірургія. 2017;7(903):13–6. *(Особистий внесок:*

аналіз літературних даних, формування бази даних хворих, математична обробка, написання статті.)

28. Burlaka AA, Kolesnik OO. Principles of acute liver failure detection and its management in early postoperative period. Онкологія. 2016;18(1):15–9. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих та їх математична обробка, написання статті.)*

29. Колеснік ОО, Бурлака АА, Ганіч ОВ, Палій МІ, Головка ТС. Волюметрія при розширених резекціях печінки. Онкологія. 2016;18(2):137–41. *(Особистий внесок: аналіз літературних даних, формування бази даних оперованих хворих, математична обробка, написання статті.)*

30. Бурлака АА, Васильєв ОВ, Тіунова ІА, Колеснік ОО, винахідники; Національний інститут раку, патентовласник. Спосіб одномоментної in situ резекції печінки на фоні віддаленого ішемічного попередження. Патент України № 124581. 2018 квіт. 10. *(Особистий внесок: проведено патентно-інформаційний пошук, клінічне обстеження пацієнтів, статистична обробка результатів, оформлення заявки.)*

31. Бурлака АА, Васильєв ОВ, Дорожинський ВІ, Колеснік ОО, винахідники; Національний інститут раку, патентовласник. Спосіб одномоментної резекції та реконструкції інфраренального відділу аорти та нижньої порожнистої вени. Патент України № 123445. 2018 лют. 26. *(Особистий внесок: проведено патентно-інформаційний пошук, клінічне обстеження пацієнтів, статистична обробка, оформлення заявки.)*

32. Бурлака АА, Звірич ВВ, Колеснік ОО, винахідники; Національний інститут раку, патентовласник. Спосіб застосування вдосконаленого глісонового методу мобілізації воріт печінки. Патент України № 136878. 2019 вер. 10. *(Особистий внесок: проведено патентно-інформаційний пошук, клінічне обстеження пацієнтів, статистична обробка, оформлення заявки.)*

33. Бурлака АА, Ашихмін АВ, Колеснік ОО, винахідники; Національний інститут раку, патентовласник. Спосіб виконання напіваавтоматичної волюметрії злоякісних новоутворень печінки методом МРТ-дифузії. Патент України № 136877. 2019 вер. 10. *(Особистий внесок: проведено патентно-інформаційний пошук, клінічне обстеження пацієнтів, статистична обробка результатів, оформлення заявки.)*

34. Колеснік ОО, Бурлака АА, Звірич ВВ, Дорожинський ВІ. Алгоритми хірургічного лікування хворих на колоректальний рак із синхронним метастатичним ураженням печінки: метод. рекомендації. Київ; 2017. 28 с.

35. Бурлака АА, Шудрак АА, Колеснік ОО. Хірургія печінки при метастатичному колоректальному раку: зняття обмежень. В: Матеріали наук.-практ. конф. (для молодих вчених) Сучасні підходи до діагностики та лікування злоякісних новоутворень; 2019 Бер 22; Київ. Клін. онкологія. 2019;9(33):58.

36. Бурлака АА, Рудюк ТО, Вовк АВ, Бурлака АП. Редокс-формуючі молекули та їх ефекти у хворих на метастатичний колоректальний рак. В:

Тези X Міжнар. семінару студентів та молодих вчених, присвяч. Всесвітньому дню боротьби з раком; 2019 Січ 31 – Лют 29; Київ. Онкологія. 2019.21(1):87–8.

37. Gafurov M, Burlaka A, Ganusevich I, Burlaka A, Vovk A, Lukin S. Redox state of adipose tissue and gastric cancer: connerction with the body mass index and distance from the tumor. Eur. J. Clin. Investigation. 2019;(Suppl. 1, Abstract 53th Annual Scientific Meeting of the European society of Clinical Invetigation The clocks of the metabolism and disease; 2019 May 22–24; Coimbra):121–2.

38. Burlaka A. Surgical tactic for non-colorectal and non-neuroendocrine metastatic liver metastases. В: Матеріали VIII Міжнар. мед. конгресу Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України; 2019 Квіт 17–19; Київ:116.

39. Рудюк ТО, Бурлака АА. Паренхімозберігаючі резекції як альтернативний метод при колоректальних метастазах в печінку. В: Матеріали наук.-практ. конф. для молодих вчених, Онкологія сьогодні: від діагностики до лікування; 2018 Бер 23; Київ. Онкологія. 2018;20(2):148–9.

40. Бурлака АА, Колеснік ОО. Перед- та інтраопераційна променева діагностика у хворих на метакронно метастазуючий колоректальний рак. В: Матеріали VII Міжнар. мед. конгресу Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України; 2018 Квіт 25–27; Київ:74–5.

41. Burlaka AA, Kolesnik OO. The functional status of liver remnant in metastatic colorectal cancer patients. Eur. Surgery. 2017;(Suppl. 1, Abstract 10th Anniversary of the European Federation for Colorectal Cancer (EFR); 2017 Apr 20–22; Vienna):14.

42. Burlaka AA, Vasiliev OV, Dorozhinskiy VI, Zvirych VV, Kolesnik OO. Long-term survival for colorectal cancer with liver metastases. Digestive Surgery. 2017;(Suppl. 2, Abstract IASGO's 27th World Congress; 2017 Nov 20–22; Lyon):45.

43. Бурлака АА, Вовк МО. Доцільність виконання розширених резекцій печінки. В: Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених Перспективи діагностики та лікування онкологічної патології; 2016 Бер 18; Київ. Клин. онкологія. 2016;2(22):66.

44. Колеснік ОО, Бурлака АА, Лукашенко АВ. Функціональний стан гепатоцитів в умовах гострої печінкової недостатності в післяопераційному періоді. Укр. радіол. журн. 2016;(Дод 1, Матеріали XIII з'їзду онкологів та радіологів України; 2016 Трав 26–28; Київ):78.

АНОТАЦІЯ

Бурлака А. А. Метаболічні та стромальні предиктори метастатичного колоректального раку із метакронним ураженням печінки: контроль раннього прогресування, обґрунтування методології комбінованого лікування. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.07 «Онкологія». – Національний інститут раку, Київ, 2021.

У дисертаційній роботі представлено вирішення актуальної проблеми: поліпшено онкологічний прогноз у хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки шляхом використання паренхімозберігаючої хірургічної стратегії та дослідження редокс-залежних предикторів раннього прогресування. Робота базується на 3 етапах, що включають дослідження *in vivo* (95 мишей C57BL та 35 щурів Wistar), ретроспективного (аналіз 285 клінічних випадків резекцій печінки з приводу метастатичного ураження КРР) та проспективного дослідження із залученням 185 хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки. *In vivo* патологічний ефект ішемії-реперфузії сприяв пухлинному росту шляхом активації порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій та зростання швидкості генерування СР (у мишей C57BL в групі контролю, групі формування вогнищ росту аденокарциноми MC38, групі моделювання ППР та застосування спротивредуючих полімерів, швидкість генерування СР в печінці складала $(0,22 \pm 0,05)$, $(1,6 \pm 0,4)$, $(3,02 \pm 0,49)$ та $(2,4 \pm 0,58)$ нмоль/г сирової тканини, $p < 0,05$). Ретроспективним аналізом встановлено, що стратегія атипичних та анатомічно-орієнтованих резекцій печінки забезпечила 5-річну кумулятивну виживаність на рівні $(40 \pm 5) \%$ та $(33 \pm 6) \%$ відповідно, $p=0,03$. Доведено, що резекція печінки у хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки за принципами ПЗХ – це безпечна та ефективна хірургічна стратегія, незалежно від локалізації метастатичних вогнищ (загальна 3-річна кумулятивна виживаність та середнє значення цього показника в групах порівняння ЦСП / ПЛМ склали $(53 \pm 9) \%$ / $(59 \pm 15) \%$ та $(32,9 \pm 3,2) \%$ (95 % ДІ: 26,9–74,4) / $(35,2 \pm 2,2) \%$ (95 % ДІ: 30,9–39,1), $p=0,3$). Доведено, що тривалість нормо-ішемії потенціює порушення функціонування ЕТЛ мітохондрій та корелює з вираженими порушеннями функціонування гепатоцитів вже при ≥ 45 хв (кінцевий результат багатофакторної лінійної регресії показав наявність стійкого негативного зв'язку тривалості нормо-ішемії печінки з рівнем низькоспінового цитохрому Р-450 $(-44,26 \pm 13,97)$ (95 % ДІ: -72,01 до -16,52) та NO-модифікованих FeS білків $(-25,05 \pm 13,92)$ (95 % ДІ: -52,71 до 2,61). Показано, що рівень генерування СР у паренхімі оперованої печінки може бути незалежним прогностичним фактором виживаності при КРР – 3-річна кумулятивна виживаність, стратифікована за рівнем СР відд. тк. ($< 0,39$ та $\geq 0,39$ нмоль/г сирової тк.·хв), складала відповідно $(41 \pm 12) \%$ та $(10 \pm 0,9) \%$, ($p=0,012$).

Ключові слова: колоректальний рак, метастатичне ураження печінки, неконтрольоване прогресування, редокс-статус, патологічний ефект ішемії-реперфузії, радикальні форми кисню, тривалість ішемії, молекулярні маркери онкологічного прогнозу.

АННОТАЦІЯ

Бурлака А. А. Метаболические и стромальные предикторы метастатического колоректального рака с метакронным поражением печени: контроль раннего прогрессирования, обоснование методологии комбинированного лечения. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.07 «Онкология». – Национальный институт рака, Киев, 2021.

В диссертационной работе представлено решение актуальной проблемы: улучшено онкологический прогноз у больных колоректальным раком (КРР) с метастатическим поражением печени путем использования паренхимосохраняющей хирургической стратегии и исследования редокс-зависимых предикторов раннего прогрессирования. Работа базируется на 3 этапах, включающих исследования *in vivo* (95 мышей C57BL и 35 крыс Wistar), ретроспективного (анализ 285 клинических случаев резекции печени по поводу метастатического поражения КРР) и проспективного исследования с привлечением 185 больных КРР с метастатическим поражением печени. *In vivo* патологический эффект ишемии-реперфузии способствовал опухолевому росту путем активации нарушения функционирования дыхательной цепи митохондрий и ростом скорости генерирования супероксидных радикалов (СР) (у мышей C57BL в группе контроля, группе формирования очагов роста аденокарциномы MC38, группе моделирования патологического эффекта ишемии-реперфузии и применения сопротивления редуцирующих полимеров, скорость генерирования СР в печени составила $(0,22 \pm 0,05)$, $(1,6 \pm 0,4)$, $(3,02 \pm 0,49)$ и $(2,4 \pm 0,58)$ нмоль/г сырой ткани, $p < 0,05$). Ретроспективным анализом установлено, что стратегия атипичных и анатомически-ориентированных резекций печени обеспечила 5-летнюю кумулятивную выживаемость на уровне $(40 \pm 5) \%$ и $(33 \pm 6) \%$ соответственно, $p = 0,03$. Доказано, что резекция печени у больных КРР с метастатическим поражением печени за принципами паренхимосохраняющей хирургии – это безопасная и эффективная хирургическая стратегия, независимо от локализации метастатических очагов (общая 3-летняя кумулятивная выживаемость и среднее значение этого показателя в группах сравнения ЦСП/ПЛМ составили $(53 \pm 9) \%$ / $(59 \pm 15) \%$ и $(32,9 \pm 3,2) \%$ (95 % ДИ: 26,9–74,4) / $(35,2 \pm 2,2) \%$ (95 % ДИ: 30,9–39,1), $p = 0,3$). Доказано, что продолжительность нормо-ишемии потенцирует нарушения функционирования электронно-транспортной цепочки митохондрий и коррелирует с выраженными нарушениями функционирования гепатоцитов уже при ≥ 45 мин (конечный результат многофакторной линейной регрессии показал наличие устойчивой негативной связи продолжительности нормо-ишемии печени с уровнем низкоспинового цитохрома P-450 $(-44,26 \pm 13,97)$ (95 % ДИ: -72,01 до -16,52) и NO-модифицированных FeS белков $(-25,05 \pm 13,92)$ (95 % ДИ: -52,71 до 2,61). Показано, что уровень генерирования СР в паренхиме оперируемой печени может быть независимым прогностическим фактором выживаемости при КРР – 3-летняя кумулятивная выживаемость, стратифицированная по уровню СР отд. тк. ($< 0,39$ и $\geq 0,39$ нмоль/г сырой тк. мин), составила соответственно $(41 \pm 12) \%$ и $(10 \pm 0,9) \%$, ($p = 0,012$).

Ключевые слова: колоректальный рак, метастатическое поражение печени, неконтролируемое прогрессирование, редокс-статус, патологический эффект ишемии-реперфузии, радикальные формы кислорода, молекулярные маркеры онкологического прогноза, продолжительность ишемии.

ABSTRACT

Burlaka A.A. Metabolic and stromal predictors of the metastatic colorectal cancer with metachronous liver injury: control of the early progression, substantiation of the combined therapy approach. – Qualifying scientific work as a manuscript.

A dissertation for the scientific degree of the doctor of medical sciences, specialty 14.01.07 «Oncology». – National Cancer Institute, Kyiv, 2021.

A dissertation presents an approach dedicated to solve an urgent problem of oncology, improved oncological prognosis in patients with metastatic liver disease with colorectal cancer (CRC) through the use of parenchyma-preserving surgical strategy (PPS) and the study of redox-dependent predictors of the early progression.

The work based on 3 fragments, including an in vivo study (95 C57BL mice and 35 Wistar rats), a retrospective study (analysis of 285 clinical cases of liver resections in case of metastatic CRC) and a prospective study involving 185 CRC patients with metastatic liver disease.

It was found on in vivo model a pathological effect of ischemia-reperfusion (I/R) which promotes tumor growth via activation the mitochondrial respiratory chain dysfunction and increased rate of the superoxide radicals generation (in control group C57BL mice the formation of MS38 adenocarcinoma growth sites, pathologic effect of ischemia-reperfusion modeling and drag-reducing polymers (DRP) using, superoxide radicals (SR) generation in liver was $(0,22 \pm 0,05)$, $(1,6 \pm 0,4)$, $(3,02 \pm 0,49)$ and $(2,4 \pm 0,58)$ nmol/g raw tissue, $p < 0,05$). The hemorheological effects of the DRP provided enhanced microcirculatory perfusion and oxygenation in liver tissues, decreased SR generation rate and oxidation-induced mutations in hepatocyte DNA.

A retrospective analysis of 285 patients with CRC shown that the strategy of atypical and anatomically-oriented liver resection leads to a 5-year cumulative survival rate – $(40 \pm 5) \%$ and $(33 \pm 6) \%$, respectively, $p=0,03$.

Established principles of the PPS allow to remove safely and effectively metastatic lesions within the right liver core, portal and caval confluence, paracal and caudal parts of S1, in S4, S5, S8 of the liver (complications scored $\geq$ III degree observed in 24,4 % and 21,8 % in central liver sites (CLS) and periferal located metastastasis (PLM) groups, respectively ($p=0,15$; 90-day mortality was 1,2 %). Resection of the central sites of the liver according to the principles of PPS allowed to prevent the development of acute liver failure and the «small for size» liver syndrome (large liver resections accounted for 6,4 % in the CLS group). Implementation of PPS for patients with metastatic CLS lesions increases the likelihood of liver resections in the case of uncontrolled progression of the minimal residual disease in operated liver (the number of resections was 54/81 in groups of CLS/PLM).

Adaptation of PPS strategy in patients with multiple (mediana of the removed metastatic sites 7 (2–15) bilobar liver disease demonstrated oncological safety (3-year

overall and recurrence-free survival rate was $(53 \pm 9) \%$ and $(31 \pm 8) \%$, respectively). The R1v vascular detachment strategy in combination with modern chemotherapy regimens can be an effective method that will reduce the cohort of unresectable patients (3-year recurrence-free survival rate for patients from CLS group with R1v ($n=24$)/R0 resection edge ($n=54$) was $(25 \pm 13) \%$ / $(33 \pm 9) \%$ ($p=0,36$). It is proved that in hepatocytes of the operated liver under the condition of $I/R \geq 45$ min a reprogramming of mitochondrial metabolism from oxidative phosphorylation to glycolysis registered; the latter resulted in cellular hypoxia formation (blood lactate level and liver tissue lactate level in 1 hour after the parenchyma transection were $(1,8 \pm 0,6)$ ($0,8-3,9$) mmol/l and $(2,1 \pm 0,4)$ ($1,1-3,9$) $\mu\text{M/g}$ of raw tissue).

It is proved that the duration of the warm ischemia potentiates the dysfunction of mitochondrial respiratory chain and correlates with severe hepatocyte dysfunction even at ≥ 45 min time point (the final result of multifactorial linear regression showed the presence of a stable negative relationship between the duration of warm ischemia of the liver with the level of low-spin cytochrome P-450 $(-44,26 \pm 13,97)$ (95 % CI: -72,01 to -16,52) and NO-modified FeS proteins $(-25,05 \pm 13,92)$ (95 % CI: -52,71 to 2,61).

It was found that the tissue of the metastasis and the surrounding liver have pronounced level of the redox molecules sources activation: SR, NO and MMP-2, MMP-9 as compared to the same markers in liver tissue at 5 cm distance. A metastatic microenvironment formation in liver is provided by SR and NO-induced activation of MMPs and remodeling of the intercellular matrix, on one hand, and increased rate of superoxide radicals generation and accumulation of 8-oxoguanine, which are a signal for cell proliferative processes activation, on the other hand.

It was found that statistically significant effect on the 8-oxoguanine formation rate in patients have the following factors: volume of metastatic liver tissue ($p=0,037$, warm ischemia duration during the liver parenchymal transection ($p=0,001$) and a surgery duration ($p=0,006$).

It is shown that the level of SR generation in parenchyma of the operated liver can be an independent prognostic factor of the survival rate in CRC (average survival rates of operated patients depend on the rate of SR generation by mitochondria of hepatocytes in CRC (3-year cumulative survival stratified by level of SR in normal tissue ($<0,39$ and $\geq 0,39$ nmol/g crude tissue min.) was $(41 \pm 12) \%$ and $(10 \pm 0,9) \%$, respectively, the median for the same groups was in the range of $(40,3 \pm 4,2)$ ($32,2-48,4$) months and $(7,4 \pm 5,6)$ ($0-18,5$) months ($p=0,012$).

The studied markers of the redox status of liver operated due to CRC metastases can be used to assess the functional condition of organs and tissues of distant metastasis, the risk of recurrence of cancer and can be used for further improvement of therapeutic approaches.

Key words: colorectal cancer, metastatic liver damage, uncontrolled progression, redox status, pathological effect of ischemia-reperfusion, radical forms of oxygen, duration of ischemia, molecular markers of oncological prognosis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ,
СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

NO	—	оксид азоту
R0	—	статус краю резекції печінки R0
R1v	—	статус краю резекції печінки R1 vascular
S1, S4, S5, S8	—	1-й, 4-й, 5-й та 8-й сегменти печінки
АЛТ	—	аланінамінотрансфераза
БЛ	—	білірубін
ГПН	—	гостра печінкова недостатність
ДІ	—	довірчий інтервал
ЕПР	—	електронний парамагнітний резонанс
ЕТЛ	—	електронно-транспортний ланцюг
ІОП	—	ішемія оперованої печінки
КРР	—	колоректальний рак
КТ	—	комп'ютерна томографія
ЛЛД	—	ліва латеральна доля
ММП-2, ММП-9	—	матриксні металопротеїнази-2 та -9
МП	—	маневр Прінгла
МРТ	—	магнітно-резонансна томографія
ПЗХ	—	паренхімозберігаюча хірургія
ПІР	—	патологічний ефект ішемії-реперфузії
ПЛМ	—	периферично локалізовані метастази
СД	—	середня доля
СП	—	стандартна похибка
СР	—	супероксидний радикал
СРП	—	спротивредуючий полімер
УЗД	—	ультразвукова діагностика
ЦСП	—	центральні сайти печінки