

На правах рукописи

Жариков Юрий Олегович

**БИОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ ПРОКСИМАЛЬНЫХ ЖЕЛЧНЫХ
ПРОТОКОВ**

14.01.17 – Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

МОСКВА - 2017

Работа выполнена в ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

ЧЖАО Алексей Владимирович

Официальные оппоненты:

Гранов Дмитрий Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ “ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий” Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель отдела интервенционной радиологии и оперативной хирургии.

Шаповальянц Сергей Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО Российский научный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой госпитальной хирургии №2 и хирургической гастроэнтерологии и эндоскопии лечебного факультета.

Ведущая организация:

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.124.01 при ФГБУ “Институт хирургии им. А.В. Вишневского” Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 27.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России по адресу: г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 27 и на сайте www.ixv.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

С.В. Сапелкин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Опухоль Клатскина (опухоль проксимальных желчных протоков, воротная холангиокарцинома (ВХ)) представляет собой злокачественное новообразование внепеченочных желчных протоков и составляет от 50% до 70% всех случаев холангиоцеллюлярного рака [Razumilava N., 2014]. При этом заболеваемость на протяжении последних десятилетий непрерывно растет и уже опережает заболеваемость гепатоцеллюлярным раком, находящимся на первом месте по распространенности среди первичных гепатобилиарных опухолей [Rizvi S., 2013; Ефанов М.Г., 2014]. Агрессивная хирургическая тактика при ВХ характеризуется высоким уровнем послеоперационной летальности и осложнений, а послеоперационное течение заболевания неблагоприятным прогнозом [Belghiti J., 2005; Щерба А.Е., 2009; Nuzzo G., 2012; Soares К.С., 2014].

Радикальное хирургическое лечение ВХ, которое включает в себя резекцию конfluence печеночных протоков и расширенные резекции печени (с удалением I сегмента печени), является единственным методом, позволяющим увеличить продолжительности жизни этой группе пациентов [Neuhaus P., 2012; Вишневский В.А., 2004, 2013]. Однако технически это не всегда достижимо вследствие распространения злокачественного новообразования на прилежащие структуры ворот печени, такие как ствол воротной вены (ВВ) и ее ветви, печеночные артерии, а также прилежащую паренхиму печени [Hemming A.W., 2005; Neuhaus P., 2012]. Следует отметить, что 5-летняя выживаемость после хирургического лечения ВХ составляет от 10 до 50% [Nagino M., 2013; Groot Koerkamp B., 2015].

В то же время при анализе отдаленных результатов хирургического лечения ВХ до сих пор комплексно не учитываются биомолекулярные и морфологические характеристики опухоли, что важно с точки зрения отдаленного прогноза течения заболевания. Таким образом, отдельного рассмотрения требует проблема поиска и выбора прогностически значимых

факторов ВХ, обуславливающих течение заболевания в послеоперационном периоде и характеризующих биологические свойства опухоли.

Изучение закономерностей течения опухолевого процесса с учетом комплексной оценки клинико-морфологических и молекулярных факторов опухоли, а также выявление их корреляции с клиническими данными могут стать определяющими для составления математико-прогностических моделей индивидуального прогноза течения ВХ после операции, что позволит более эффективно прогнозировать и анализировать отдаленные результаты хирургического лечения. Решение данной задачи откроет новые пути для индивидуального подхода к послеоперационному лечению пациентов с ВХ, а также улучшению выживаемости при этом заболевании.

Цель работы - установить роль клинико-морфологических и биомолекулярных факторов опухоли в аспекте отдаленных результатов хирургического лечения больных с опухолями проксимальных желчных протоков.

Задачи исследования:

1. Определить основные прогностически значимые клинико-морфологические факторы течения опухоли Клатскина на основании данных морфологических методов диагностики.

2. Изучить отдаленные результаты лечения пациентов в зависимости от клинико-морфологических факторов опухоли.

3. Выявить биомолекулярные факторы опухоли проксимальных желчных протоков и определить прогностическое значение этих характеристик.

4. Разработать систему оценки прогноза заболевания у пациентов с опухолями проксимальных внепеченочных желчных протоков.

Научная новизна исследования

Впервые дана клиническая оценка роли клинико-морфологических факторов опухоли проксимальных внепеченочных желчных протоков при прогнозировании выживаемости.

Уточнена зависимость и уровень значимости между клинико-морфологическими параметрами опухоли и продолжительностью жизни оперированных больных опухолью Клатскина.

Впервые проведена оценка молекулярных маркеров СК7, СК20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6 в комплексе с клинико-морфологическими параметрами ВХ при прогнозировании выживаемости после хирургического лечения.

Впервые в клинической практике разработана многофакторная шкала прогнозирования общей выживаемости при ВХ (заявка на патент №2016117124 от 29.04.2016 «Способ прогнозирования общей выживаемости у больных опухолью Клатскина после хирургического лечения»).

Теоретическое и практическое значение

На основании результатов проведенного исследования разработана многофакторная математико-прогностическая система, учитывающая прогностически значимые клинико-морфологические факторы ВХ. Шкала позволяет по предварительным данным прогнозировать течение заболевания с точностью до 90%. Результаты исследования могут служить теоретическим обоснованием индивидуальной лечебно-диагностической тактики при ВХ в отдаленном послеоперационном периоде в зависимости от рассчитанной области прогноза, определяемого на основании клинико-морфологических и биомолекулярных характеристик опухоли. Полученные результаты позволили проспективно проводить оценку эффективности хирургического лечения больных с ВХ в отдаленном периоде.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Клинико-морфологические факторы, а именно степень дифференцировки клеток опухоли и выполнение резекции хвостатой доли печени, являются критериями, достоверно влияющими на отдаленный прогноз течения заболевания.

2. При прогнозировании течения ВХ после хирургического лечения необходимо определять клинико-морфологические факторы опухоли с

учетом биомолекулярного маркера N-cadherin, отражающего степень выраженности эпителиально-мезенхимального перехода.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования внесены в практическую работу отдела абдоминальной хирургии ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России. Результатами внедрения данной работы стало повышение точности прогноза течения заболевания в отдаленном периоде, а также высокоточная оценка эффективности проводимого лечения опухолей проксимальных желчных протоков.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность результатов и выводов диссертационной работы подтверждаются их репрезентативностью за счет изучения отдаленных результатов хирургического лечения больных ВХ и обследования достаточного количества пациентов (36), а также проведением патологоанатомического (в том числе иммуногистохимического) исследования полученных интраоперационно образцов ткани опухоли с использованием адекватных методов статистического анализа.

Материалы диссертации были представлены на:

XXII Международном конгрессе ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ 7-9 сентября 2015 г., г. Ташкент, Республика Узбекистан; XII Съезде хирургов России 5-10 октября 2015 г., г. Ростов-на-Дону, Россия; Межведомственной научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинической хирургии», ФКУЗ «МСЧ МВД России по г. Москве», 21 марта 2016 г.; Международном конгрессе НРВ в г. Сан-Паулу, Бразилия, 20-23 апреля 2016 г.; XXIII Международном конгрессе ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ 14-16 сентября 2016 г., г. Минск, Республика Беларусь; 2-ой Всероссийской конференции с международным участием "Новые технологии в хирургии", 7-8 октября 2016 г., г. Москва; XXI республиканской научно-практической конференции (Вахидовские Чтения – 2016) «Роль молодых ученых в развитии и

совершенствовании торако-абдоминальной и сердечно-сосудистой хирургии», 11 ноября 2016 г. Ташкент, Республика Узбекистан.

Апробация работы проведена 28.10.2016 г. на заседании проблемной комиссии с участием научных сотрудников отдела абдоминальной хирургии, клинико-диагностического отделения с группой клинической иммунологии, отдела лучевой диагностики и эндоскопического отделения ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России.

Личный вклад автора

Анализ данных отечественной и зарубежной литературы, ретроспективный анализ историй болезни и результатов обследования пациентов (в том числе данные патологоанатомического исследования с иммуногистохимической окраской препаратов), статистическая обработка и обобщение полученных результатов выполнены лично автором. Также автором установлены клинико-морфологические факторы, достоверно влияющие на прогноз течения заболевания, на основании которых разработана многофакторная шкала для прогнозирования общей выживаемости при ВХ после хирургического лечения. Автор принимал непосредственное участие в лечебном процессе больных с ВХ (ведение пациентов, ассистенция во время операций) с начала прохождения обучения по программе аспирантуры в ФГБУ «Институт хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России в 2014 г.

Публикация материалов исследования

По теме диссертационной работы опубликованы 13 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, и 7 тезисов в отечественной и зарубежной печати, подана 1 заявка на патент.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 116 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 24 рисунками, содержит

17 таблиц. Список литературы включает 138 источников (27 отечественных и 111 иностранных).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.17 – Хирургия, области исследования согласно пунктам 1, 2.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал и методы исследования

Объектом исследования являлись пациенты отделения хирургической гепатологии и панкреатологии (руководитель - д.м.н., профессор Вишневский В.А.) ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России (руководитель - д.м.н., профессор, академик РАН Ревешвили А.Ш.).

С 2011 по 2015 г. на лечении в Институте находилось 55 пациентов с ВХ. Хирургическое лечение проведено после билиарной декомпрессии у 37 (67,3%) больных. Летальный исход был в 1 (2,7%) случае, что обусловлено развитием острой печеночно-почечной недостаточности в раннем послеоперационном периоде (в анализ не включен). Среди пациентов мужчины составили 66,7% (n=24), женщины – 33,3% (n=12), средний возраст больных составил $57,1 \pm 11,3$ лет (от 30 до 70 лет). Распределение пациентов в зависимости от стадии опухолевого процесса (AJCC, 2010) и типа распространения ВХ (Bismuth-Corlette, 1975), представлено в табл. 1.

Таблица 1

Распределение пациентов по стадиям и типу распространения опухоли

Стадия	Типы распространения опухоли согласно классификации Bismuth-Corlette					Всего, абс (%)
	I	II	IIIА	IIIВ	IV	
I	-	-	-	1	-	1 (2,8%)
II	-	2	2	2	3	9 (25%)
IIIА	-	-	1	2	7	10 (27,8%)
IIIВ	-	-	1	-	5	6 (16,7%)
IVА	-	-	-	-	7	7 (19,4%)
IVВ	-	-	-	1	2	3* (8,3%)
Всего, абс (%)	-	2 (5,6%)	4(11,1%)	6(16,6%)	24 (66,7%)	36 (100%)

Преобладали пациенты с IV типом по Bismuth-Corlette (у 24 (66,7%)) больных, что определяло сложность выполнения радикальной операции. В 10 (27,8%) случаях были оперированы больные с IVa и IVb стадией, что было диагностировано только после интраоперационной ревизии и получения результатов гистологического исследования (резекции печени при IVb стадии выполнены при унилобарном метастатическом поражении печени).

Гистологические и иммуногистохимические исследования выполнены специалистами отдела патологической анатомии с лабораторией электронной микроскопии (руководитель: к.м.н. Калинин Д.В.) ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России. Результаты гистологического исследования биопсийного материала приведены в табл. 2.

Таблица 2

Распределение больных в зависимости от морфологических параметров опухоли

Гистологические факторы		Число больных; абс., %
Степень дифференцировки (grade) (n=36)	высокодифференцированная	9 (25%)
	умереннодифференцированная	17(47,3%)
	низкодифференцированная	10 (27,7%)
Микрососудистая инвазия (n=22)	имеется	9 (40,9%)
	нет	13 (59,1%)
Периневральная инвазия (n=23)	имеется	17 (73,9%)
	нет	6 (26,1%)

Чаще всего наблюдались умеренно дифференцированные опухоли (у 17(47,3%) из 36 больных) с наличием периневральной инвазии (у 17 (73,9%) из 23 пациентов). Микрососудистая инвазия опухолевых клеток выявлена в менее чем половине случаев (у 9 (40,9%) из 22 больных).

Экспрессия молекулярных маркеров оценивалась полуколичественным методом (число клеток на 100 посчитанных, при подсчете не менее 1000 клеток): (0) - при отсутствия экспрессии; + (1 балл) - слабая; ++ (2 балла) – умеренно выраженная; +++ (3 балла) – интенсивная.

В качестве первичных антител были использованы антитела к N-cadherin (E18260, фирмы SPRING BIOSCIENCE, готовые к использованию), Ki 67 (клон MIB-1, фирмы DAKO, в разведении 1:75), муцину 1 типа (MRQ-17,

фирмы CELL MARQUE, в разведении 1:100), муцину 2 типа (MRQ-18, фирмы CELL MARQUE, в разведении 1:50), муцину 5AC типа (MRQ-19, фирмы CELL MARQUE, в разведении 1:100), муцину 6 типа (MRQ-20, фирмы CELL MARQUE, в разведении 1:100), СК7 (клон OV-TL 12/30, Cell Marque, в разведении 1:100), СК20 (клон Ks20.8, Cell Marque, в разведении 1:100).

Статистическая обработка

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием непараметрических статистических методов. Кривые выживаемости (продолжительность жизни) строились с использованием метода Kaplan-Meier, сравнение проводили с использованием log-rank теста. Для изучения одновременного влияния зависимых переменных на выживаемость использовалась регрессионная модель пропорционального риска Кокса. Корреляция между зависимыми переменными определена с помощью индекса корреляции Спирмена. Полученные различия были признаны статистически достоверными при $p < 0,05$ (95% точности).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение зависимости между прогностическими факторами и выживаемостью больных воротной холангиокарциномой

Для описания оперативных вмешательств мы использовали международную терминологию резекций печени, принятую в 2000 году в г. Брисбене (Австралия). Выбор объема резекции осуществлялся в зависимости от следующих клинико-морфологических параметров опухоли: типа распространения опухоли по Bismuth-Corlette, поражения регионарных лимфоузлов, а также функциональных резервов печени. Результаты хирургического лечения анализированы у 36 больных. Варианты хирургического вмешательства у пациентов с опухолью Клатскина, представлены в табл. 3.

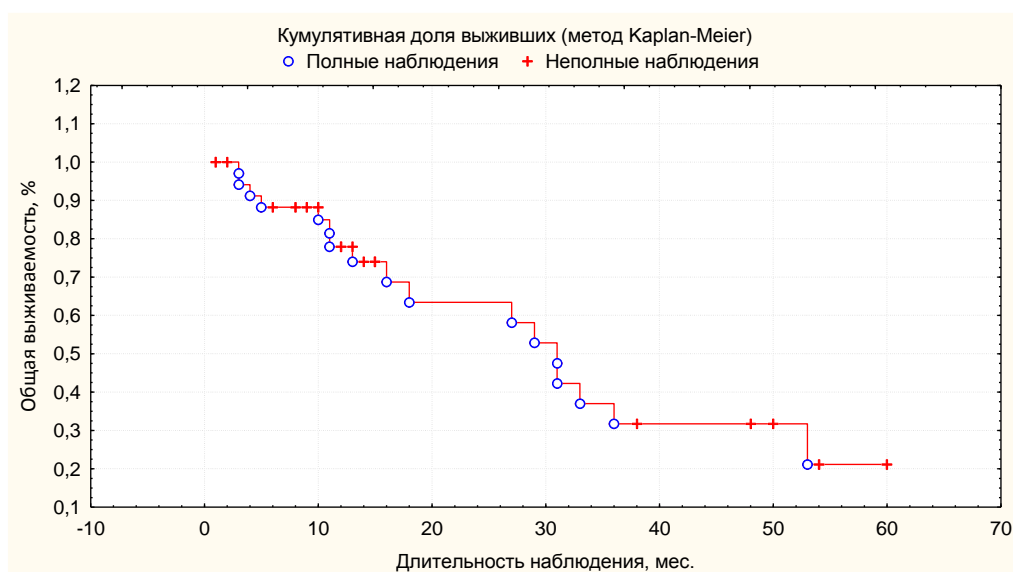
Таблица 3

Варианты оперативных вмешательств в зависимости от их объема

Объем операции	Количество
Изолированная резекция внепеченочных желчных протоков с конfluenceм	1 (2.8%)
Желчные протоки + ЛГГЭ	3 (8.3%)
Желчные протоки + ЛГГЭ + S1	8 (23.1%)
Желчные протоки + РЛГГЭ	2 (5.6%)
Желчные протоки + ПГГЭ	8 (23.1%)
Желчные протоки + РПГГЭ (в том числе + S1)	6 (16.6%)
Желчные протоки + атипичные резекции S4,5 печени	4 (11%)
Желчные протоки + ЛГГЭ + резекция/протезирование ВВ	3 (8.3%)
Желчные протоки + ПГГЭ+ резекция/протезирование ВВ	1 (2.8%)

В большинстве случаев выполнялись ГГЭ с резекцией желчных протоков (у 15 (41,7%) больных) и расширенные резекции печени (у 8 (23,1%) больных). У 4 (11%) больных резекция печени сочеталась с резекцией ВВ с последующим протезированием.

Общая 1-, 2-, 3-, 5 -летняя выживаемость составила 77,9%, 63,4%, 31,7%, 21,1% соответственно ($p=0,11$) (рис.1).

**Рис.1.** Общая выживаемость больных с ВХ после хирургического лечения

Анализирована зависимость продолжительности жизни от изученных клинико-морфологических факторов с помощью моно- и полифакторного анализа регрессионной модели пропорционального риска Кокса (табл. 4, 5).

Таблица 4

Зависимость между прогностическими факторами и продолжительностью жизни (монофакторный анализ)

Фактор прогноза	Уровень достоверности факторов, р
Макроскопический	
Тип распространения по Bismuth-Corlette	0,94

Микроскопический	
Степень дифференцировки клеток	0,00003*
Перинеуральная инвазия	0,0114*
Микрососудистая инвазия	0,038*
Глубина инвазии опухоли в окружающие ткани	0,193
Опухолевые клетки в крае резекции (R)	0,0219*
Клинический	
Резекция S1 печени	0,327
Резекция воротной вены	0,3701
Стадия заболевания (TNM)	0,028*

*Примечание: статистически достоверное значение.

При монофакторном анализе наиболее важными предикторами выживаемости являются стадия заболевания (pTNM), степень дифференцировки клеток опухоли, наличие перинеуральной и сосудистой инвазии, радикальность оперативного вмешательства (край резекции). Наряду с этим тип распространения опухоли по Bismuth-Corlette, выполнение резекции ВВ и I сегмента печени не имеют достоверной связи с общей выживаемостью при монофакторном анализе ($p > 0,05$).

Таблица 5

Зависимость между прогностическими факторами и продолжительностью жизни (полифакторный анализ)

Фактор прогноза	Уровень достоверности факторов, p
Макроскопический	
Тип распространения опухоли по Bismuth-Corlette	0,096
Микроскопический	
Степень дифференцировки клеток опухоли	0,0011*
Перинеуральная инвазия	0,276
Микрососудистая инвазия	0,051
Глубина инвазии опухоли в окружающие ткани	0,4829
Опухолевые клетки в крае резекции (R)	0,5334
Клинический	
Резекция S1 печени	0,0137*
Резекция воротной вены	0,94
Стадия заболевания (TNM)	0,1156

*Примечание: статистически достоверное значение.

При полифакторном анализе было выявлено, что наиболее значимыми факторами опухоли, определяющими прогноз течения заболевания являются: сегментэктомия S1 печени ($p = 0,0137$) и степень дифференцировки клеток опухоли ($p = 0,0011$).

Выявлено, что 1-, 3-, 5 -летняя выживаемость среди пациентов с высокодифференцированной аденокарциномой составила 88,2%, 75,63%, 56,7% соответственно; при умереннодифференцированной аденокарциноме 1-, 2-, 3 -летняя выживаемость составила 84,6%, 71,6%, 17,9% соответственно, 5-летней выживаемости не было. При наличии клеток низкодифференцированной аденокарциномы 1-, 2-летняя выживаемость составила 41,5%, 21,1%, максимальная продолжительность жизни среди этих больных составила 26,6 мес. Полученные данные среди групп больных были статистически достоверны ($p=0,0362$) (рис. 2).

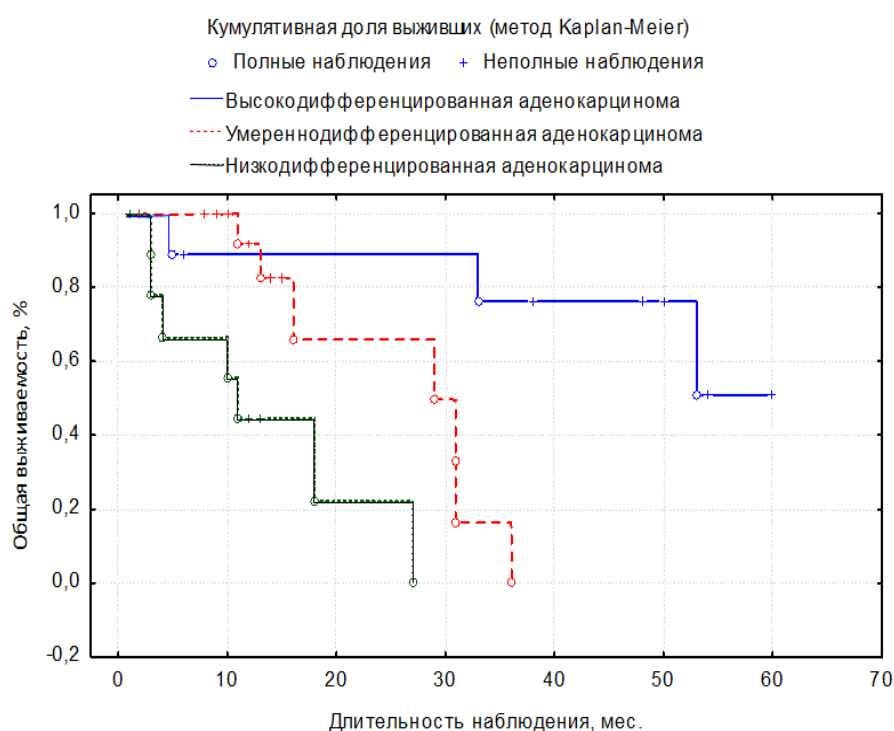


Рис. 2. Зависимость общей выживаемости от степени дифференцировки клеток опухоли ($p = 0,00003$).

При монофакторном анализе выживаемости в зависимости от радикальности проведенного оперативного вмешательства показано, что проведение радикальной операции у больных с ВХ определяет лучшую отдаленную выживаемость ($p<0,05$) (рис.3).

При сравнении общая 1-, 3-, 5 -летняя выживаемость среди пациентов с R0-резекцией составила 92,3%, 46,1%, 34,6% соответственно. У 21 больного, которому была выполнена резекция печени R1 и R2, общей 5-летней

продолжительности жизни не достиг ни один больной. В этой группе больных общая выживаемость составила 18,8% в течение 36 мес., что является вполне удовлетворительным результатом, что показывает необходимость проведения оперативных вмешательств у больных с местнораспространенными опухолями (IV тип по Bismuth-Corlette).

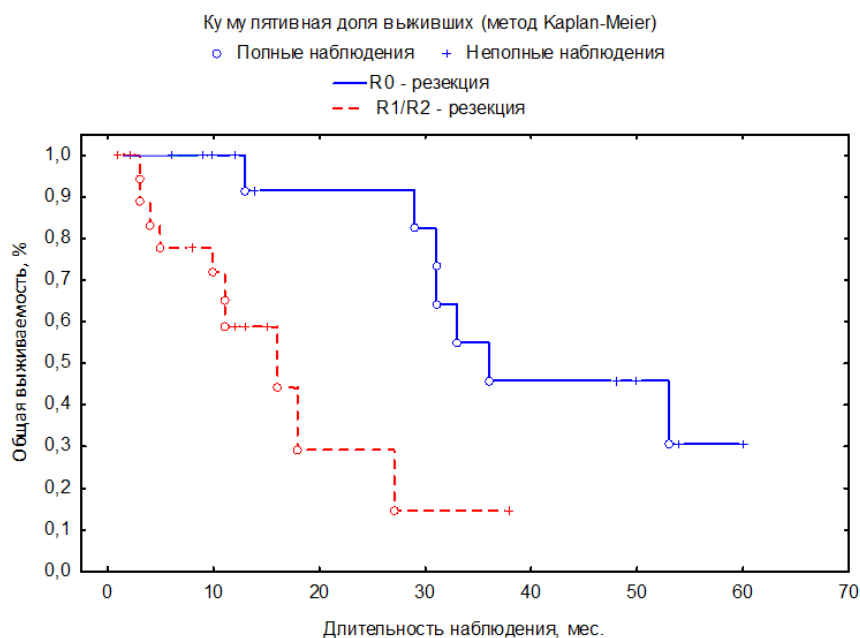


Рис.3. Зависимость общей выживаемости от радикальности операции ($p = 0,0219$).

При анализе продолжительность жизни от стадии заболевания по TNM (AJCC, VII издание) были получены результаты, которые отражены в табл. 6.

Таблица 6

Продолжительность жизни пациентов в зависимости от стадии заболевания

Стадия заболевания (AJCC, 2010)	Продолжительность жизни, мес.	Выживаемость, %
I-II стадия (I группа, n=10)	12	86,7
	36	65
	60	39
IIIa стадия (II группа, n=10)	12	89,4
	36	0
	60	0
IIIb стадия (III группа, n=6)	12	75
	36	58,3
	60	0
IVa стадия (IV группа, n=7)	12	100
	36	50
	60	0

IVb стадия	12	66,7
(V группа, n=3)	36	0
	60	0

Проведенный анализ показал, что общая 3- и 5-летняя выживаемость при I-II стадии выше, чем таковая продолжительность жизни при других стадиях болезни. При этом четкой зависимости между стадией заболевания и продолжительностью жизни выявлено не было, также между группами не получено статистически достоверной разницы ($p=0,21$).

Анализ отдаленных результатов лечения в зависимости от стадии заболевания показал, что 5-летняя выживаемость при I-II стадии составила 86,7%, при других стадиях 5-летней продолжительности жизни не было. Статистически значимой зависимости между установленной стадией онкологического заболевания и продолжительностью жизни не выявлено.

Таким образом, при прогнозировании течения заболевания в послеоперационном периоде недостаточно только определить стадию болезни. Требуется проведение комплексной оценки следующих клинико-морфологических параметров: локализация опухоли и ее «местное» распространение, вовлечение крупных сосудистых структур, поражение регионарных лимфоузлов ГДС, а также наличие опухолевых клеток в крае резекции, микрососудистой и периневральной инвазии, степени дифференцировки опухоли, т.к. именно на основании этих параметров можно установить степень распространенности злокачественного заболевания и определить адекватность проведенного хирургического вмешательства.

Многофакторный регрессионный анализ Кокса проводился только для оценки ряда клинико-морфологических параметров опухоли, поскольку число проведенных гистологических исследований таких факторов, как опухолевые клетки в лимфоузлах, периневральная и сосудистая инвазия, было разным. По этой причине, в сравниваемых группах число законченных и незаконченных событий не позволило провести соответствующий анализ. В связи с вышесказанным можно прийти к выводу, что комплексная оценка

факторов риска неблагоприятного прогноза заболевания должна быть основой при отборе пациентов с ХВ для оперативного вмешательства.

Влияние резекции первого сегмента печени на отдаленные результаты лечения больных с опухолью Клатскина

Продолжительность жизни также была изучена в зависимости от выполнения резекции S1 сегмента печени, в связи с чем больные были разделены на 2 группы: в первую группу включено 16 (44,4%) пациентов, которым были выполнены резекции хвостатой доли печени, во вторую – 20 пациентов, которым резекция внепеченочных желчных протоков с ГГЭ не была дополнена сегментэктомией S1.

Противопоказанием к расширению объема операции резекцией 1 сегмента являлся высокий риск развития острой пострезекционной печеночной недостаточности вследствие дефицита остающейся паренхимы культи печени и низкого функционального резерва печени на фоне гнойно-воспалительных осложнений (холангит, абсцессы печени) и сохранявшейся на момент операции механической желтухи средней и тяжелой степени.

Резекция R0 достигнута у 6 (16,6%) пациентов при дополнении объема операции удалением S1 печени, у 10 (27,78%) больных при резекции S1 печени радикальность операции R1/R2.

При монофакторном регрессионном анализе выявлено, что дополнение гемигепатэктомии резекцией первого сегмента печени повышает общую 5-летнюю выживаемость с 0% (без резекции) до 27,9% (с резекцией хвостатой доли печени) (рис.4). Полифакторный анализ показал, что проведение сегментэктомии S1 печени в комплексе с другими клинικο-морфологическими факторами статистически достоверно влияет на общую выживаемость ($p=0,0137$).

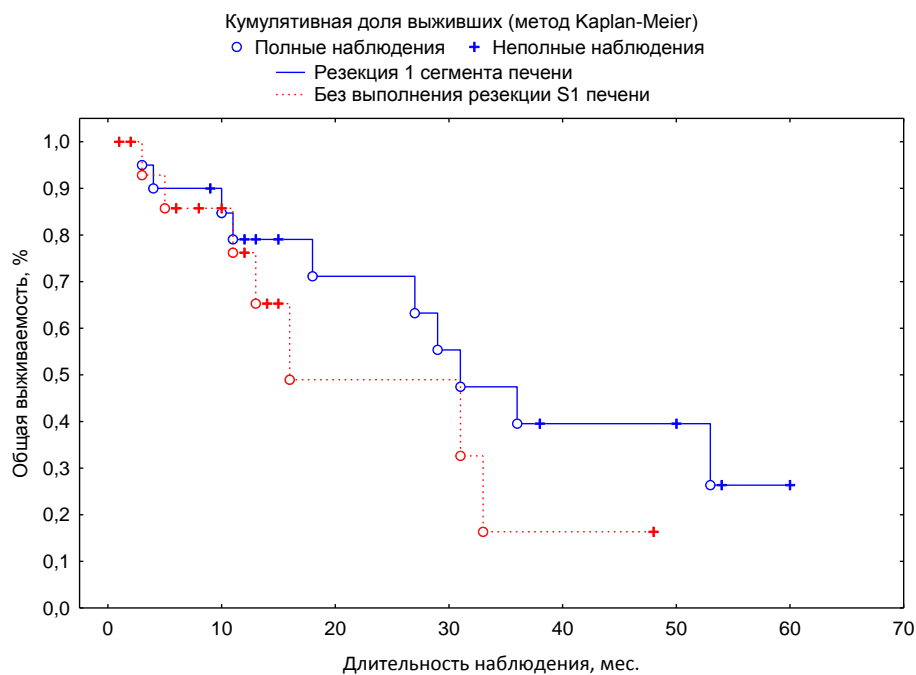


Рис. 4. Зависимость общей выживаемости от дополнения гемигепатэктомии резекцией S1 сегмента печени.

При проведении моно- и полифакторного анализа зависимости различных клинико-морфологических факторов и продолжительности жизни в сравниваемых группах была выявлена статистически достоверная разница в зависимости от степени дифференцировки клеток опухоли во всех группах больных, которым выполнялись операции. Несмотря на то, что в нашем исследовании преобладали пациенты с I-IIIa (20 (55,6%) больных) стадией заболевания, 5-летняя выживаемость составила 21,1%. Таким образом, отдаленные результаты во многом зависят не только от объема и радикальности проведенного оперативного вмешательства, но и от «биологических» параметров ВХ (молекулярных факторов).

Молекулярные факторы прогноза

С целью создания комплексной многофакторной шкалы оценки прогноза заболевания нами были изучены степень дифференцировки клеток опухоли и уровень экспрессии молекулярных факторов опухоли: CK7, CK20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6 (табл. 7). Уровень экспрессии Muc 1, 2, 5AC и 6, CK7, CK20 определяет следующие типы аденокарциномы: кишечинальный, фовеолярный, онкоцитарный и билиарный типы. Высокая

степень экспрессии N-cadherin в опухолевых клетках указывает на высокую агрессивность опухоли и степень выраженности эпителиально-мезенхимального перехода, что лежит в основе механизмов инвазии и опухолевой диссеминации, которые являются основными прогностическими факторами у больных с ВХ.

Таблица 7

Иммуногистохимический анализ молекулярных факторов (n=10)

Степень дифференцировки клеток опухоли	Экспрессия маркеров								Тип клеток аденокарциномы
	N-cadherin	Ki-67	Muc 1	Muc 2	Muc 5AC	Muc 6	CK 7	CK20	
Умеренная	+	40	++	0	++	0	0	0	Билиарный
Умеренная	+	20	++	0	+++	0	+++	0	Билиарный
Умеренная	+	45	++	0	+++	0	+++	0	Билиарный
Умеренная	++	35	+	0	+++	0	++	++	Билиарный
Умеренная	+	25	+++	0	+++	0	0	0	Билиарный
Умеренная	++	30	+++	0	+++	+	++	0	Билиарный
Низкая	0	60	+	0	++	0	0	+++	Кишечный
Низкая	++	15	+++	0	+++	0	+++	0	Онкоцитарный/билиарный
Умеренная	++	40	+++	0	++	+	+++	0	Билиарный
Умеренная	0	35	+++	0	++	++	+++	0	Билиарный

У обследованных больных наиболее часто встречалась умереннодифференцированная аденокарцинома билиарного типа, однако взаимосвязи между молекулярными факторами опухоли и статистически значимым клинико-морфологическим фактором (степень дифференцировки клеток) выявлено не было. Анализирована корреляция уровня экспрессии указанных маркеров с общей выживаемостью (табл. 8).

Таблица 8

Экспрессия CK7, CK20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6 у больных воротной холангиокарциномой

Молекулярные факторы	Корреляция с выживаемостью	Достоверность, p
CK 7	-0,4	0,249
CK 20	-0,03	0,934
Ki-67	-0,223	0,535
Muc 1,2	-0,016	0,963
Muc 5AC	0,356	0,312
Muc 6	0,073	-
N-cadherin	0,694	0,032

Из таблицы следует, что между экспрессией N-cadherin и общей выживаемостью имеется умеренная степень корреляции, связь между исследуемыми признаками (степень экспрессии и продолжительность жизни) – прямая (зависимость признаков статистически значима ($p < 0,05$)). С уровнем экспрессии остальных маркеров теснота связи корреляции признаков слабая. Полученные результаты указывают на то, что высокий уровень мембранно-цитоплазматической экспрессии N-cadherin в клетках опухоли является неблагоприятным прогностическим фактором.

Анализ прогноза заболевания у 10 пациентов (ЛГГЭ - 4, РПГГЭ (в т.ч. + S1) – 2, ПГГЭ – 2, атипичная резекция печени (S4) + внепеченочные желчные протоки -2), которым проведено иммуногистохимическое исследование, показал, что независимо от характера оперативного вмешательства при наличии неблагоприятных прогностических факторов риска (клинико-морфологических, молекулярных) исход был неблагоприятным.

Таким образом, индивидуальный прогноз течения ВХ определяет комплекс клинико-морфологических и молекулярных факторов опухоли. Проведенное иммуногистохимическое исследование подтверждает, что степень выраженности эпителиально-мезенхимальный переход имеет большое значение в развитии опухолевой прогрессии и течении заболевания, и соответственно, может использоваться в качестве маркера прогноза заболевания и характеристики «биологического» потенциала опухоли.

Многофакторная шкала прогнозирования выживаемости у больных воротной холангиокарциномой

Для определения индивидуального прогноза течения заболевания больным с опухолью Клатскина после операции в проведенном исследовании была разработана многофакторная шкала. Для построения шкалы в результате проведенного статистического анализа были определены значимые прогностические факторы ВХ.

Выявлено, что минимальным и достаточным комплексом показателей, позволяющим адекватно определить прогноз течения заболевания после операции, является стадия заболевания (TNM), тип распространения по

Bismuth-Corlette, степень дифференцировки клеток опухоли, периневральная инвазия, микрососудистая инвазия, радикальность операции. Кроме того, для наибольшей точности метода нами был использован мультимодальный подход, для чего оценка факторов производилась комплексно. Полученным значениям присваиваются балльные оценки (табл. 9).

Таблица 9

Балльная оценка факторов риска воротной холангиокарциномы

Клинико-морфологический фактор (F)	Балльная значимость			
	0	1	2	3
Стадия TNM (I-IV)	-	I- IIIa	IIIb-IV	-
Тип распространения опухоли по печеночным протокам по Bismuth-Corlette	-	I-IIIb	IIIa	IV
Степень дифференцировки клеток опухоли	-	Высокодифференцированная	Умереннодифференцированная	Низкодифференцированная
Микрососудистая инвазия	-	нет	есть	-
Периневральная инвазия	-	нет	есть	-
Радикальность операции (R)	R0	R1	R2	-

Прогнозирование общей продолжительности жизни (выживаемости) по клинико-морфологическим и биомолекулярным факторам в комплексе проводится в два этапа.

На первом этапе используется прогностическая система, представленная 3 балльной шкалой оценки факторов прогноза. В зависимости от степени влияния каждого фактора ему присваивается соответствующее число баллов, приведенное в табл. 9. При построении индивидуального прогноза (P) осуществляется подсчет количества баллов, соответствующих уровню влияния каждого фактора риска, с применением следующей формулы:

$$P = \frac{\sum F_i}{F_{\max}} * 100\% , \text{ где}$$

показатель P – вероятная область прогноза общей выживаемости у больных ВХ в послеоперационном периоде.

$\sum F_i$ - сумма балльной значимости каждого фактора, представленного в таблице

F_{\max} – максимальное значение факторов риска (14 баллов).

При прогнозировании учитывают значение области прогноза (варианты 1, 2, 3) для ожидаемой общей выживаемости у больных опухолью Клатскина в отдаленном периоде, которые распределяются следующим образом:

- Р от 0 до 70% (вариант 1) – вероятна выживаемость более 2 лет;
- Р от 71% до 80% (вариант 2) – вероятна выживаемость 1-2 года включительно;
- Р от 81% и более (вариант 3) – вероятна выживаемость менее 1-го года.

При наступлении неблагоприятного исхода до 12 мес. – прогноз течения заболевания считается плохим, с 12 мес. до 24 мес. – умеренным, 24 мес. и после – хорошим. На первом этапе на основании изучения клинимоρφологических факторов опухоли определяется соответствующее значению фактора число баллов, их суммируют. Далее проводится расчёт вероятного прогноза течения заболевания на основании вышеприведенной формулы. На втором этапе с помощью оценки молекулярных факторов опухоли на основании ожидаемой продолжительности жизни анализируется потенциал злокачественности опухоли (биология опухоли). В качестве молекулярного фактора используется белок N-cadherin. Балльная оценка не проводится, а учитывается уровень интенсивности экспрессии указанного фактора, возможные варианты значения приведены ранее в табл. 9, а именно чем более выражена экспрессия N-cadherin, тем хуже прогноз течения заболевания. После комплексного анализа клинимоρφологических и молекулярных факторов на завершающем этапе проводится моделирование полученных результатов.

Расчитанный прогноз у 9 (90%) пациентов соответствовал последующему течению заболевания. У большинства пациентов (n=8) прогноз был хорошим и умеренным. Продолжительность жизни составила от 13 до 57 мес. после операции. При этом средняя (++) интенсивность экспрессии N-cadherin чаще отмечалась у больных с умеренным и плохим прогнозом (в 3(60%) клинических наблюдениях), по сравнению с пациентами с хорошим прогнозом послеоперационного течения заболевания (1 (20%) больного) (p=0,19). Таким образом, предложенная многофакторная шкала может быть использована в клинической практике для каждого пациента с

точностью до 90%, однако полученные результаты требуют дальнейшего изучения в связи с малым числом наблюдений.

ВЫВОДЫ

1. Клинико-морфологические факторы опухоли проксимальных желчных протоков, а именно степень дифференцировки клеток опухоли и резекция S1 печени, являются достоверно влияющими на прогноз течения заболевания после хирургического лечения.
2. Факторами неблагоприятного прогноза опухоли Клатскина являются умеренно- и низкодифференцированная опухоль, выполнение R1 и R2 резекции, наличие выраженной периневральной и микрососудистой инвазии клеток опухоли. При наличии этих факторов показатель 2-летней выживаемости составил от 17,9 до 18,8%, 5-летней выживаемости не достиг ни один больной.
3. Молекулярный маркер N-cadherin характеризует биологические характеристики опухоли и степень выраженности эпителиально-мезенхимального перехода и имеет умеренную корреляционную связь с общей выживаемостью вне зависимости от радикальности и объема хирургического вмешательства.
4. Разработанная прогностическая модель, основанная на комплексном использовании клинико-морфологических факторов опухоли, позволяет правильно определить продолжительность жизни пациента с точностью до 90%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Хирургическое лечение показано всем больным с местнораспространенной опухолью Клатскина (особенно при IV типе по Bismuth-Corlette) при отсутствии отдаленных метастазов, что требует «агрессивной» хирургической тактики и проведения полного удаления опухоли путем резекции внепеченочных желчных протоков и правосторонней или левосторонней гемигепатэктомии с резекцией I сегмента.
2. При изучении отдаленных результатов хирургического лечения воротной холангиокарциномы в алгоритм патоморфологического исследования

целесообразно включить оценку клинико-морфологических факторов опухоли (степень дифференцировки клеток опухоли, наличие перинеуральной и микрососудистой инвазии, опухолевые клетки в крае резекции) и иммуногистохимическое определение уровня экспрессии молекулярного маркера эпителиально-мезенхимального перехода - N-cadherin.

3. Для более достоверного изучения результатов комплексного лечения опухоли Клатскина при проведении рандомизированных исследований после хирургического лечения целесообразно стратифицировать пациентов на группы с учетом полученного на основании клинико-морфологических и молекулярных факторов с применением математической модели индивидуального прогноза течения заболевания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Билиарная декомпрессия при опухолях проксимальных желчных протоков / **Жариков Ю.О.**, Шевченко Т.В., Чжао А.В. // **Клиническая медицина.** - 2015. - Т. 93. - № 9. - С. 11 - 15.
2. Взгляд на проблему опухоли Клатскина / А.В. Чжао, Т.В. Шевченко, **Ю.О. Жариков** // **Хирургия. Журнал имени Н.И.Пирогова.** – 2015. - №4. - С. 62 - 67.
3. Внутривенный холангиоцеллюлярный рак (обзор) / **Ю.О. Жариков**, Т.В. Шевченко, А.В. Чжао // **Современная онкология.** – 2015. – Т. 17 (2). - С. 18 – 25.
4. Факторы риска опухолей проксимальных желчных протоков / **Жариков Ю.О.**, Коваленко Ю.А., Чжао А.В.// Альманах Института хирургии имени А.В.Вишневского. - 2015. - №2. - С. 1569 - 1570.
5. Хирургическое лечение и прогноз при опухолях проксимальных внепеченочных желчных протоков / **Жариков Ю.О.** // Материалы XXII Международного конгресса ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные проблемы гепатобилиарной хирургии», Ташкент, Республика Узбекистан. – 2015. - С. 211 - 212.
6. Биомолекулярные факторы прогноза при опухоли Клатскина / **Ю.О. Жариков**, Ю.А. Коваленко, А.В. Чжао // **Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова.** – 2016. - №5. - С. 82 - 85 (doi:10.17116/hirurgia2016582-85).

7. Значение изучения клинико-патологических и молекулярных параметров опухоли в хирургическом лечении больных воротной холангиокарциномой/ **Жариков Ю.О.**, Коваленко Ю.А. // Хирургия Узбекистана. – 2016. - №3. - С. 21 - 22.
8. Отдаленные результаты хирургического лечения воротного холангиоцеллюлярного рака / **Жариков Ю.О.**, Кожемякина В.В., Коваленко Ю.А., Чжао А.В. // Сборник научных трудов межведомственной научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинической хирургии», Москва. - 2016 г. - С. 114 - 117.
9. Хирургическое лечение и прогноз при воротной холангиокарциноме / **Жариков Ю.О.**, Коваленко Ю.А., Чжао А.В. // Материалы XXIII Международного конгресса ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные проблемы гепатобилиарной хирургии», Минск, Республика Беларусь. – 2016. - С. 202 - 204.
10. Predictive scale model for hilar cholangiocarcinoma / Y. Kovalenko, **Y. Zharikov**, A. Zhao // HPB. – 2016. – Vol. 18 (S1). – P. e303.
11. Surgery of hilar cholangiocarcinoma / Zhao A.V., Kovalenko Y. A., **Zharikov Yu.O.** // ABSTRACTS. The 2nd Russian nationwide conference with international participation «New Technologies in surgery», Moscow. - 2016. – С. 13.
12. Клинико-патологические и молекулярные факторы прогноза воротной холангиокарциномы / **Жариков Ю.О.**, Коваленко Ю.А., Чжао А.В. // **Военно-медицинский журнал.** – 2017. – Т. 338. - №1. – С. 67-69.
13. Клинико-патологические факторы и шкала прогноза при воротной холангиокарциноме / **Жариков Ю.О.**, Коваленко Ю.А., Олифир А.А., Калинин Д.В., Чжао А.В. // **Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова.** – 2017. - №1. – С. 27-31.

Список сокращений, использованных в автореферате

ВВ – воротная вена

ВХ – воротная холангиокарцинома

ГДС – гепатодуоденальная связка

ГГЭ – гемигепатэктомия

ЛГГЭ – левосторонняя гемигепатэктомия

ПГГЭ – правосторонняя гемигепатэктомия