

**ФГБУ ИНСТИТУТ ХИРУРГИИ ИМЕНИ А.В. ВИШНЕВСКОГО
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

ЖАРИКОВ

Юрий Олегович

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

14.01.17 - хирургия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
ЧЖАО Алексей Владимирович

Москва – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Определение и классификация опухолей проксимальных желчных протоков.....	11
1.2. Эпидемиологические аспекты воротной холангиокарциномы.....	13
1.3. Этиологические факторы, приводящие к развитию воротной холангиокарциномы.....	14
1.4. Молекулярно-генетические аспекты и патогенез воротной холангиокарциномы	14
1.5. Гистологическая картина при воротной холангиокарциноме.....	17
1.6. Клиническая картина при воротной холангиокарциноме....	18
1.7. Диагностика воротной холангиокарциномы	19
1.8. Хирургическое лечение воротной холангиокарциномы.....	23
1.9. Выживаемость у больных воротной холангиокарциномой...	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Характеристика пациентов с воротной холангиокарциномой	39
2.2. Биомолекулярные маркеры прогноза заболевания и продолжительности жизни.....	45
2.3. Статистическая обработка полученных результатов.....	49
ГЛАВА 3. РОЛЬ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ.....	50
3.1 Определение зависимости между прогностическими факторами и выживаемостью больных воротной холангиокарциномой.....	50

3.2. Влияние резекции первого сегмента печени на отдаленные результаты лечения больных с опухолью Клатскина	59
ГЛАВА 4. ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПРОГНОЗ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ.....	63
4.1. Молекулярные факторы прогноза	63
4.2. Многофакторная шкала прогнозирования выживаемости у больных воротной холангиокарциномой.....	73
4.3. Клинические примеры прогнозирования выживаемости больных воротной холангиокарциномой	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	92
ВЫВОДЫ	98
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	100

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ВВ – воротная вена
- ВХ - воротная холангиокарцинома
- ГГЭ – гемигепатэктомия
- ГДС – гепатодуоденальная связка
- ДПК – двенадцатиперстная кишка
- ЛГГЭ – левосторонняя гемигепатэктомия
- МРХПГ – магнитно-резонансная холангиопанкреатография
- МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография
- НБД – назобилиарное дренирование
- ОТП - ортотопическая трансплантация печени
- ПГГЭ – правосторонняя гемигепатэктомия
- ПСХ – первичный склерозирующий холангит
- РГГЭ – расширенная гемигепатэктомия
- РЭА – раковоэмбриональный антиген
- ТАХЭ - трансартериальная химиоэмболизация
- ХЦР - холангиоцеллюлярный рак
- ЧЧХГ – чрескожная чреспеченочная холангиография
- ЧЧХС – чрескожная чреспеченочная холангиостомия
- ЭКГ - электрокардиография
- ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход
- ЭРХПГ – эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография
- EGFR – рецептор эпидермального фактора роста
- МАРК – митоген-активированная протеинкиназа
- SI – I сегмент печени
- SNPs - единичные нуклеотидные полиморфизмы
- TGF- β - трансформирующий фактор роста – β
- VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста
- β -cat – β -катенин

ВВЕДЕНИЕ

Опухоль Клатскина (опухоль проксимальных желчных протоков, воротная холангиокарцинома) представляет собой злокачественное новообразование внепеченочных желчных протоков и составляет на сегодняшний день от 50% до 70% от всех случаев холангиоцеллюлярного рака (Razumilava N., 2014). Локализация опухоли и ее близкое расположение к сосудистым структурам ворот печени обуславливают низкую резектабельность опухоли. Агрессивная хирургическая тактика при опухоли Клатскина характеризуется высоким уровнем послеоперационной летальности и осложнений, а послеоперационное течение заболевания неблагоприятным прогнозом (Belghiti J. et al., 2005; Щерба А.Е. и соавт., 2009; Nuzzo G. et al., 2012; Soares K.C. et al., 2014).

Анализ литературы показывает, что, несмотря на достижения в области лабораторной и инструментальной диагностики, раннее выявление и лечебная тактика при воротной холангиокарциноме на сегодняшний день остается актуальной проблемой хирургической онкологии. Основным методом хирургического лечения пациентов с опухолью Клатскина являются обширные резекции печени и желчных протоков (Neuhaus P., 2012; Вишневский В.А., и соавт., 2004, 2013). Следует отметить, что 5-летняя выживаемость после хирургического лечения воротной холангиокарциномы составляет от 10 до 50% (Nagino M. и соавт., 2013; Groot Koerkamp B. и соавт., 2015).

Радикальное хирургическое лечение опухолей Клатскина, которое включает в себя резекцию конфлюэнса печеночных протоков и расширенные резекции печени (с удалением I сегмента печени), является единственным методом, позволяющим увеличить продолжительности жизни этой группе пациентов. Однако технически это не всегда достижимо вследствие распространения злокачественного новообразования на прилежащие структуры ворот печени, такие как ствол воротной вены и ее ветви, печеночные артерии, а также прилежащую паренхиму печени (Hemming A.W., et al, 2005; Neuhaus P., et al., 2012).

В то же время при анализе отдаленных результатов хирургического лечения опухоли Клатскина до сих пор не учитываются комплексно молекулярно-генетические и морфологические аспекты опухоли, что, по нашему мнению, важно с точки зрения отдаленного прогноза течения заболевания. Таким образом, отдельного рассмотрения требует проблема поиска и выбора прогностически значимых факторов воротной холангиокарциномы, 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 заболевания после операции, что позволит более эффективно прогнозировать отдаленные результаты хирургического лечения.

Решение данной задачи откроет новые пути для индивидуального подхода к лечению рака проксимальных желчных протоков, 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

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 CK7, CK20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6 в комплексе с клинико-морфологическими параметрами воротной холангиокарциномы при прогнозировании выживаемости после хирургического лечения.

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

Практическая значимость

На основании результатов проведенного исследования разработана многофакторная математико-прогностическая система, учитывающая прогностически значимые клинико-морфологические факторы воротной холангиокарциномы. Шкала позволяет по предварительным данным прогнозировать течение заболевания с точностью до 90%. Результаты исследования могут служить теоретическим обоснованием индивидуальной лечебно-диагностической тактики при опухоли Клатскина 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 воротной холангиокарциномой в отдаленном периоде. Многофакторная шкала также используется для информирования пациентов после проведения хирургического лечения (радикального, условно-радикального, циторедуктивного), как руководство для решения вопроса о назначении адъювантной химиолучевой терапии.

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 воротной холангиокарциномы 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 воротной холангиокарциномой 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.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на следующих конгрессах и съездах:

1. XXII Международный конгресс ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ 7-9 сентября 2015 года, г. Ташкент, Республика Узбекистан.
2. XII Съезд хирургов России 5-10 октября 2015 г. г. Ростов-на-Дону, Россия.
3. Межведомственная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы клинической хирургии», ФКУЗ «МСЧ МВД России по г. Москве», 21 марта 2016 г.
4. Международный конгресс НРВ в г. Сан-Паулу, Бразилия, 20-23 апреля, 2016 года.
5. XXIII Международный конгресс ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ 14-16 сентября 2016 года в г. Минск, Республика Беларусь.
6. 2-ая Всероссийская конференция с международным участием "Новые технологии в хирургии", 7-8 октября 2016., г. Москва.
7. XXI республиканская научно-практическая конференция (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» Министерства здравоохранения РФ.

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 клинко-морфологические факторы, достоверно влияющие на прогноз течения заболевания, на основании которых разработана многофакторная шкала для прогнозирования общей выживаемости при опухолях проксимальных желчных протоков после хирургического лечения. Автор принимал непосредственное участие в лечебном процессе больных воротной холангиокарциномой (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 году.

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 работы

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Определение и классификация опухолей проксимальных внепеченочных желчных протоков

Опухоль Клатскина (опухоль проксимальных внепеченочных желчных протоков, воротная (хилярная) холангиокарцинома (ВХ)) представляет собой злокачественное новообразование проксимальных внепеченочных желчных протоков, проксимальной границей которого является начало сегментарных печеночных протоков 2 порядка, а дистальной – область слияния общего печеночного и пузырного протоков [32]. ВХ составляет на сегодняшний день от 50% до 70% от всех аденокарцином билиарного типа [107]. Воротный холангиоцеллюлярный рак был впервые описан William Altemeier (1957) и Gerald Klatskin (1965) [12, 32, 121].

Центральная локализация, близкое расположение к сосудистым структурам ворот печени, агрессивный рост, вертикальная и продольная инвазия, а также метастазирование обуславливают низкую резектабельность опухоли. Важно отметить, что быстро прогрессирующая желтуха, малые объемы пострезекционного остатка печени и сопутствующие заболевания характеризуют высокий уровень послеоперационной летальности (7,5-17,6%) и осложнений (43,1-50%), неблагоприятный прогноз у больных воротной холангиокарциномой [13, 25, 27, 80, 91, 127].

Несмотря на это, в течение последних двух десятилетий отмечается увеличение хирургической активности и ее «агрессивности» при воротной холангиокарциноме, в том числе более широкое применение расширенных и комбинированных хирургических вмешательств, сопровождающихся резекцией сосудов с их последующей реконструкцией, что позволило улучшить ближайшие и отдаленные результаты лечения этой группы больных [13, 27, 86, 95].

В настоящее время в мире используются различные классификации опухоли Клатскина, каждая описывает определенные характеристики опухоли [19, 121].

Классификация Bismuth-Corlette (1975 г.) позволяет оценить локальное распространение опухоли и определить объем резекции, однако при этом не учитывается информация о вовлечении сосудистых структур и метастатическом поражении, что ограничивает прогностическую ценность данной классификации [32, 33]. Точность классификации составляет от 48% до 64% [102].

По данным литературы 50-90% всех случаев воротной холангиокарциномы составляют III-IV ее типы согласно классификации Bismuth-Corlette [25, 46, 54].

Классификация MSKCC (The Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 1998 г.) уточняет локализацию опухоли, а также оценивает инвазию в воротную вену и атрофию печеночной ткани. В данной классификации, как и в классификации Bismuth-Corlette, не рассматриваются метастатическое поражение и вовлечение регионарных лимфатических узлов. Точность классификации в предоперационном стадировании местного распространения опухоли составила около 86% [45, 68, 119, 121].

Американским объединенным комитетом, занимающимся проблемой рака (American Joint Committee on Cancer (AJCC)), была предложена классификация холангиокарцином, в которую была интегрирована классификация TNM, основанная на патологоанатомическом исследовании. В VII издании классификации AJCC (2010 г.) внепеченочные ХЦР были классифицированы отдельно и подразделены на воротные опухоли и опухоли дистальных желчных протоков [28, 47]. В отличие от классификаций Bismuth-Corlette и MSKCC, в классификации AJCC учитываются сосудистое поражение (портальной вены и печеночной артерии), вовлечение регионарных лимфатических узлов (N1 - узлы вдоль пузырного протока, общего желчного протока, печеночной артерии и воротной вены; N2 – парааортальные, перикавальные, лимфатические узлы верхней брыжеечной артерии и чревного ствола) и отдаленные метастазы (в легких, надпочечниках, печени, брюшине и др.) [121]. Кроме того в классификации учитываются степень дифференцировки клеток опухоли и наличие резидуальной опухолевой ткани [45].

На согласительной конференции, организованной Европейской гепатопанкреатобилиарной ассоциацией (The European Hepato-Pancreato-Biliary Association) в 2007 г. была определена необходимость разработки новой классификации ВХ [122]. Учитывая наличие различных классификаций и сложность сопоставления результатов исследований в различных центрах, Deoliveira M.L. и соавторы в 2011 г. предложили новую систему классификации, включающую размер опухоли, распространенность патологического процесса по билиарному тракту, вовлечение сосудов, лимфатических узлов, отдаленные метастазы и предполагаемый остаточный объем паренхимы печени после резекции [45].

При этом авторы создали новый реестр, который дает возможность каждому медицинскому центру вводить данные своих пациентов с опухолью Клатскина (www.cholangioca.org). Наличие таких стандартизированных и многоцентровых данных, по их мнению, позволит определить основные принципы терапии для формирования в дальнейшем руководств лечения воротных холангиокарцином [45].

1.2. Эпидемиологические аспекты воротной холангиокарциномы

Холангиокарцинома составляет около 2% всех злокачественных новообразований человека, при этом она является второй по распространенности среди первичных опухолей печени после гепатоцеллюлярного рака [106, 110]. Однако в последнее время отмечается стремительный рост заболеваемости этой нозологией [71, 107].

В России опухоль Клатскина наиболее распространена на Дальнем Востоке, достигая 20% в структуре распространенности всех опухолевых заболеваний [19]. В западных странах это заболевание встречается относительно редко (от 1,2 до 6 человек на 100 000 населения) по сравнению со странами Азии, где заболеваемость среди мужчин составляет 113 на 100 000 населения, среди женщин 50 на 100 000. В Японии и Израиле частота возникновения холангиокарцином составляет 5,5 и 7,3 на 100 000 населения в год соответственно. В США ежегодно регистрируется примерно 3000 новых случаев

заболевания опухолью Клатскина. Средний возраст развития болезни - 50-60 лет. Чаще опухоль Клатскина встречается у мужчин – в 57–61% случаев [5, 18, 19, 110, 121, 123].

1.3. Этиологические факторы, приводящие к развитию воротной холангиокарциномы

Клинико-эпидемиологические исследования показали, что факторами риска развития опухоли Клатскина являются: возраст старше 60 лет, мужской пол, наличие алкогольного и неалкогольного цирроза печени, воспалительные заболевания кишечника, хронический панкреатит, кисты желчных протоков, паразитарные болезни печени, желчнокаменная болезнь, метаболический синдром [19, 121]. Ряд авторов указывает, что наиболее хорошо изучен вопрос развития ВХ на фоне ПСХ. У большинства пациентов при выявлении ПСХ заболеваемость ВХ в течение 2,5 лет составляет 6 - 36%. В связи с тем, что при ПСХ поражаются как внутри -, так и внепеченочные желчные протоки, данный фактор риска относится равноправно как к внутрипеченочным, так и к внепеченочным ХЦР. Также важное место среди причин возникновения ВХ занимают врожденные кистозные трансформации внутри- и внепеченочных желчных протоков, на фоне которых в 6-30% случаев отмечено развитие ХЦР [22, 106, 119, 123].

Предраковые состояния включают билиарную интраэпителиальную неоплазию (BiIN) и внутрипротоковую папиллярную неоплазию желчных протоков (IPN-B), которые рассматриваются как аналоги панкреатической интраэпителиальной неоплазии (PanIN) и внутрипротоковой муцинозной неоплазии поджелудочной железы (IPMN-P), соответственно [37, 89, 119].

1.4. Молекулярно-генетические аспекты и патогенез воротной холангиокарциномы

В исследовании Rizvi S. и соавт. при сравнительном геномном анализе методом гибридизации образцов ткани воротной холангиокарциномы показано, что в локусах хромосом 16q, 17p, 17q, 19p и 19q имеются точечные мутации генов [110].

В основе патогенеза опухоли лежит активация воспалительных патологических сигнальных путей, избыточная экспрессия цитокинов и активация белков STAT3 (signal transducer and activator of transcription). На фоне хронического воспаления происходит активация онкогенных сигнальных путей, включающих RAS-, MAPK- и MET-пути [88, 106]. Активация мутаций семейства KRAS белков часто отмечается при холангиокарциноме. Частота указанных мутаций у больных опухолью Клатскина составляет около 53% [110].

В последнее время активно изучаются и систематизируются механизмы инвазии и метастазирования при воротной холангиокарциноме [94]. Так, ведущее место занимает эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), который представляет собой ряд изменений, во время которых холангиоциты теряют свои эпителиальные характеристики и приобретают свойства, типичные для мезенхимальных клеток. Следует подчеркнуть, что ЭМП играет важную роль в развитии многих тканей во время эмбриогенеза. Аналогичные изменения эпителиальных клеток происходят при патологических процессах, таких как развитие фиброза и канцерогенез [93, 114].

Выявлено, что в клетках ХЦР, вовлеченных в процесс ЭМП, TGF- β нарушает морфологическое строение клетки. Этот фактор способствует переходу эпителиальных клеток в мезенхимальные посредством экспрессии белков Snail и виментина, что вызывает изменение экспрессии от E- (как основного) к N-кадгерину [29, 75, 114, 137]. Таким образом, основные молекулярные маркеры ЭМП включают снижение экспрессии цитокератинов, повышение экспрессии виментина, Snail и N-кадгерина мембран клеток и β -катенина ядерной локализации.

Zabron A. и соавт. в обзоре литературы в 2013 г. указали на то, что TGF- β и эпидермальный фактор роста (EGF) вовлечены в процессы холангиокарциногенеза. Связывание TGF- β с рецепторами вызывает фосфорилирование SMAD2 и SMAD3 и их гетеродимеризацию с SMAD4. Эти гетеродимеры перемещаются в клеточное ядро и регулируют транскрипцию

генов, в результате чего усиливается экспрессия белков Snail, Slug и Twist, которые в очередь способствуют прогрессированию ЭМП [136].

Исследование у 117 больных с внепеченочным холангиоцеллюлярным раком 12 белков, связанных с ЭМП, и их корреляция с результатами лечения, показало, что уровень экспрессии E-кадгерина ($P=0.0208$), N-кадгерина ($P=0.0038$) и S100A4 ($P=0.0157$) являются независимыми прогностическими факторами, которые могут быть использованы как новые критерии для индивидуального подбора терапии (адьювантной терапии и динамического наблюдения) [93]. В проведенном исследовании авторы изучили только взаимосвязь между степенью экспрессии опухолевых маркеров и отдаленными результатами лечения без учета основных клинико-патологических характеристик опухоли. Кроме того в иммуногистохимическое исследование и статистический анализ было включено 43 пациента с дистальным ХЦР, биология которого отлична от ВХ.

Wang T.T. и соавторами в 2013 году у больных с внутри- и внепеченочным ХЦР был изучен маркер Beclin 1. Анализ данных показал, что наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах и плохой прогноз находятся в обратной зависимости с уровнем экспрессии этого белка. Таким образом, по мнению авторов, ключевой регулятор аутофагии клеток Beclin 1 может быть использован как прогностический фактор. Однако исследователи сравнивали уровни экспрессии маркера между двумя анатомическими типами ХЦР, а не для каждого конкретного, и дальнейшее использование этого маркера в клинической практике возможно только с учетом локализации опухоли [126].

Анализ единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNPs) у больных холангиоцеллюлярным раком, развившемся на фоне первичного склерозирующего холангита или паразитарной инвазии, показал наличие 2 SNPs NKG2D (natural killer group 2 D-receptor), свидетельствует о развитии ХЦР при этой точечной мутации в 2 раза чаще при наличии фоновых воспалительных заболеваний желчных протоков [136].

Избыточная экспрессия белка EZH2 (Enhancer of zeste homolog 2) коррелирует с агрессивностью и метастазированием клеток различных типов

рака, в том числе и ХЦР, при этом выявлена гиперэкспрессия EZH2 при низкодифференцированных карциномах [133]. Данный белок может служить предиктором биологической агрессивности опухоли и плохого прогноза при ХЦР. Показано, что при подавлении EZH2 отмечается активация опухолевых супрессоров, таких как p16, E-кадгерина и P21, экспрессия EZH2 способствует агрессивному росту и инвазии ХЦР. EZH2 регулирует самообновление клеток предшественников рака, что предполагает, что эти клетки способствуют поддержанию опухолевой массы и участвуют в химиорезистентности клеток ХЦР [99].

В 2010 году Fingas C.D. и соавт. при изучении SNPs: GNB3(G protein beta 3) 825C>T, Bcl-2 (B-cell-lymphoma-2) -938C>A, и Mcl-1(myeloid cell leukemia-1) -386C>G было выявлено, что для пациентов, гомозиготных по С-аллелю GNB3 825C>T полиморфизма, характерна более высокая общая выживаемость по сравнению с пациентами, имеющими генотип СТ или ТТ (медиана выживаемости [мес.]: 31, 13, 7, соответственно; $p < 0.05$). По мнению авторов, однонуклеотидный полиморфизм GNB3 825C>T может быть независимым прогностическим маркером для пациентов с внепеченочным ХЦР. Генотип СС ассоциируется с более благоприятным клиническим исходом заболевания. Однако указанные выводы требуют дальнейшего проспективного исследования [50].

1.5. Гистологическая картина при воротной холангиокарциноме

90-94% внепеченочных опухолей представлено аденокарциномой. Согласно классификации ВОЗ, основанной на степени дифференцировки клеток, аденокарциномы желчных протоков в зависимости от процентного соотношения железистых клеток в опухолевой ткани подразделяются на высоко-, умеренно- и низкодифференцированные, количество желез в которых 95%, 40-94% и 5-39%, соответственно [34, 37, 45, 95].

По данным Майстренко Н.А. и соавт. при подозрении на опухоль Клатскина в области конfluence долевых протоков также выявляются аденосквамозные,

плоскоклеточные, перстневидно-клеточные, муцинозные и анапластические раки [18].

Для опухоли Клатскина характерны многочисленные участки пери - и интраневральной инвазии. Периневральная инвазия является специфическим путем распространения рака желчных протоков и представляет собой важный прогностический фактор. Распространение заболевания путем инвазии в прилежащие структуры ворот печени, в ветви воротной вены и печеночной артерии, прилегающую паренхиму печени является характерной особенностью воротной холангиокарциномы [8, 23, 27, 47].

Японская группа ученых, изучающих проблему рака печени (The Liver Cancer Study Group of Japan), в 2000 г. предложила классификацию, основанную на особенностях роста опухоли: объем-формирующий/ или узловой тип (mass-forming) (15%), перидуктально-инфильтративный/ или склерозирующий (periductal-infiltrating) (80%) и внутрипротоковый/ или папиллярный тип (intraductal-growing) (5%) [79, 111].

Узловая и папиллярные формы выступают в просвет желчного протока. Склерозирующий тип диффузно инфильтрирует на протяжении стенки протока с образованием небольших слизистых выступов, данный тип встречается наиболее часто. По данным литературы, папиллярная воротная холангиокарцинома в большинстве случаев резектабельна и, как считается, обладает лучшим прогнозом вследствие менее выраженного инвазивного роста [27, 37, 77, 111, 121].

1.6. Клиническая картина при воротной холангиокарциноме

Больные воротной холангиокарциномой в большинстве своем поступают в хирургические клиники с механической желтухой тяжелой степени (более 200 мкмоль/л), которая является проявлением довольно поздней стадией медленно растущей опухоли и приводит к холестатическому повреждению печени [2].

По данным ряда авторов, механическая желтуха при опухолях проксимальных внепеченочных желчных протоков является самым распространенным синдромом болезни и встречается в 69,1% - 94% случаев [7,

127]. Однако при неполной билиарной обструкции желтуха может отсутствовать, в таком случае о наличии заболевания косвенно могут говорить повышенные уровни печеночных ферментов, кожный зуд, снижение массы тела. В некоторых случаях больных беспокоят абдоминальный болевой синдром в верхнем правом квадранте живота, симптомы холангита [6, 25, 26, 76, 127].

Механическая желтуха, являющаяся наиболее распространенным клиническим проявлением опухоли Клатскина, связана с развитием большого числа осложнений, таких как бактериальная транслокация [17], почечная недостаточность, острый гнойный холангит [2, 7, 11], мальабсорбция и послеоперационная печеночная недостаточность, что повышает внутрибольничную летальность до 10% и выше [31, 53].

1.7. Диагностика воротной холангиокарциномы

Несмотря на достижения в области диагностики, основанные на лабораторных и инструментальных технологиях, выявление опухоли Клатскина на ранних стадиях болезни остается проблемой современной медицины. Оценка клинико-инструментальных данных трудна вследствие сложности строения области ворот печени, близости крупных сосудов и малых размеров опухоли.

По данным литературы в диагностическом плане при подозрении на поражение билиарного тракта используются мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), ультразвуковое исследование (УЗИ), антеградная и ретроградная холангиография [4, 9, 14, 22, 40, 112].

При проведении УЗИ можно получить информацию о наличии билиарной гипертензии (увеличение просвета желчных протоков), однако выявить локализацию обструкции и степень опухолевого поражения, пораженные лимфатические узлы, метастазы печени и брюшины с помощью УЗИ затруднительно, что требует проведения других методов диагностики [40]. По данным ряда авторов эхо-графическими признаками ВХ являются расширение внутripеченочных желчных протоков, спавшийся желчный пузырь, отсутствие

визуализации участков желчевыводящих протоков ниже опухолевой стриктуры [23, 119]. УЗИ позволяет выявить проксимальный уровень блока желчных протоков в 94,8% случаев и визуализировать опухоль в 45,8% случаев опухоли Клатскина [14].

В настоящее время в диагностике опухолей желчных протоков преимущество получает МРТ. Опухоль Клатскина проявляется как зона с гипоинтенсивным сигналом при T1-взвешенном изображении и сигналом высокой интенсивности при T2-изображении. Новообразование обычно гиповаскулярно по отношению к окружающей паренхиме печени и характеризуется неравномерным утолщением стенки желчных протоков с расширением вышележащих внутрипеченочных желчных протоков. Сочетание МРТ с режимом МРХПГ позволяет в 80% случаев определить резектабельность опухоли [41, 42, 80, 119].

МСКТ является наиболее информативным методом обследования больных с опухолями проксимальных внепеченочных желчных протоков, обладает приемлемой точностью (более 80%) в диагностике вовлечения в патологический процесс протоков (приблизительную её протяженность), воротной вены и печеночной артерии, метастазов в печень [4]. Однако диагностическая ценность в выявлении пораженных лимфатических узлов остается низкой (согласно ряду исследований, метастазы в лимфатических узлах встречаются в 24 - 47% случаев ВХ [64]. Артериальная и венозная фаза исследования позволяют выявить сосудистую инвазию соответствующих патологических образований структур ворот печени. Важным преимуществом МСКТ с контрастным усилением является возможность оценить объем печени, необходимый для обеспечения адекватного функционального резерва после резекции [13, 30, 119, 127].

МСКТ позволяет выявить атрофию одной из долей печени и гипертрофию контралатеральной (что является косвенным признаком инвазии ветви воротной вены), определить синтопию хвостатой доли печени и опухоли в области ворот печени [6, 22].

МРТ (с применением методики МРХПГ) кроме аналогичных возможностей МСКТ обладает преимуществами в трехмерной реконструкции билиарного тракта

и главного панкреатического протока [96]. Это исследование позволяет выбрать предоперационный вариант декомпрессии билиарного тракта, прогнозировать объем вмешательства, а также наиболее подходящий вариант паллиативного вмешательства при нерезектабельной воротной холангиокарциноме [82, 100]. В исследовании Сui X.Y., и соавт. в 2011 году было показано, что диффузно-взвешенная МРТ по сравнению с МРХПГ в диагностике внепеченочного ХЦР имеет чувствительность, специфичность и точность 94,3% против 74,3%; 100% против 71,4%, 96,4% против 73,2%, соответственно [42].

Чрескожная чреспеченочная холангиография при ВХ позволяет оценить распространение опухолевого процесса и ее резектабельность, а также провести антеградное билиарное дренирование как паллиативное вмешательство у больных с нерезектабельными опухолями, и как предоперационную подготовку у больных с потенциально резектабельными опухолями [8, 22]. По данным Назырова Ф.Г. и соавт., чувствительность метода – 95,2%, специфичность – 87%, точность в оценке резектабельности – 93% [22].

Методики с использованием прямого введения контрастных средств в просвет желчных протоков - анте- и/или ретроградная холангиография - уточняют характер и уровень стеноза, позволяют получить материал для морфологической верификации [22, 95]. У 10-15% больных, подвергшихся оперативному вмешательству при подозрении на ВХ, впоследствии диагностируют доброкачественные новообразования [9, 60, 83, 84, 90, 95].

Наиболее распространёнными методами взятия образцов ткани для гистологического исследования являются brush-биопсия и щипковая биопсия при эндоскопической ретроградной холангиопанкреатографии. Однако при исследовании полученного материала при brush-биопсии злокачественные клетки диагностируются от 18% до 60% случаев, при гистологическом исследовании образцов ткани, полученных при щипковой биопсии, атипичные клетки определяются от 43% до 81% случаев [9, 95]. Такие же данные приводит и Soares К.С., указывая, что в 15-20% случаев обструкция проксимальных отделов билиарного тракта обусловлена воспалительными заболеваниями желчных

протоков, ПСХ, желчнокаменной болезнью, а также раком желчного пузыря с прорастанием в ГДС. Предоперационное выявление этиологии билиарной стриктуры остается в некоторых случаях затруднительным, поэтому наиболее подходящим методом лечения в таких случаях являются резекционные вмешательства [119]. Таким образом, дифференциальный диагноз доброкачественных стриктур и рака желчных протоков остается в настоящее время трудной задачей, и, следовательно, при подозрении на опухоль Клатскина оперативное вмешательство должно быть основным в лечебной тактике

При опухоли Клатскина также используется определение уровня опухолевых маркеров раковоэмбрионального антигена (РЭА) и СА 19-9, при этом чувствительность и специфичность этих маркеров при комбинации с другими методами обследования составляют 89% и 86%, соответственно [23, 31].

Ряд авторов считает, что диагностическая лапароскопия может помочь в диагностике нерезектабельных внепеченочных билиарных карцином в 20%-30% случаев, предотвращая проведение не показанной в таких случаях лапаротомии [39, 69, 95]. Nagino M. и соавт. в 2006 году показали, что использование лапароскопии перед выполнением эмболизации ветви ВВ позволяет избежать проведения непоказанной манипуляции ввиду распространения онкологического заболевания [87]. В статье, опубликованной Joseph S. и соавт., авторы показали, что дополнение диагностической лапароскопии ультразвуковым исследованием позволяет оценить местное распространение опухоли, а также обследовать интраоперационно ткань печени на наличие метастатического поражения [69].

В работе, проведенной Nuzzo G. и соавт., были проанализированы результаты лечения 440 больных с опухолью Клатскина в период с 1992 по 2007 гг. Карциноматоз брюшины был выявлен у 1 (1,1%) из 88 пациентов, которым выполнена диагностическая лапароскопия. Авторы считают, что диагностическая лапароскопия показана при раке желчного пузыря, при котором нерезектабельность обусловлена наличием метастазов брюшины и печени, нежели при ВХ [95].

Отечественными авторами в 2004 г. был описан оптимальный алгоритм применения диагностических методов обследования, который включал в себя УЗИ органов брюшной полости с дуплексным сканированием сосудов ворот печени, МСКТ органов брюшной полости либо МРТ органов брюшной полости в режиме МРХПГ, чрескожная чреспеченочная холангиография (ЧЧХГ) (с последующей ЧЧХС), интраоперационная диагностика, включающая в себя интраоперационное УЗИ, холангиографию, биопсию [6].

1.8. Хирургическое лечение воротной холангиокарциномы

Лечебная тактика при опухоли Клатскина остается актуальной проблемой клинической онкологии. Основным методом хирургического лечения опухолевого поражения являются резекционные вмешательства на печени и внепеченочных желчных протоках [91].

Основным видом радикальных операций при ВХ признаны расширенные резекции печени с резекцией внепеченочных желчных протоков с формированием гепатикоеюноанастомоза, так как такой подход обеспечивает лучшие отдаленные результаты [66]. Выполнение радикальных вмешательств в 2 этапа (билиарная декомпрессия, радикальная операция) позволяет снизить риск летального исхода и количество послеоперационных осложнений у больных с тяжелой степенью желтухи [5, 6, 63, 73, 132].

Дренирование билиарного тракта у больных с ВХ способствует повышению операбельности пациентов, что, по данным ряда авторов, позволяет улучшить ближайшие и отдаленные результаты оперативного вмешательства вследствие расширения показаний к обширным резекциям и вмешательствам на сосудистых структурах ворот печени [13].

Резекция гепатикохоледоха с конfluenceм и долевыми печеночными протоками с последующим формированием бигепатикоеюноанастомоза может считаться радикальной операцией только при I, реже II типе опухоли по классификации Bismuth-Corlett на I-II стадии ВХ, при этом характер операции, по мнению ряда авторов, будет считаться условно радикальным [6, 13, 39].

В своей статье Журавлев В.А. и соавт., указывают, что в 90% случаев при морфологическом исследовании опухолевые клетки определяются в стенке протока на значительном расстоянии от опухоли, в связи с чем радикальность вмешательства в объеме изолированной резекции конфлюэнса желчных протоков признается авторами как сомнительная [13].

На сегодняшний день глубокое изучение анатомических особенностей печени показало, что протоки S1 впадают в непосредственной близости к конфлюэнсу долевых печёночных протоков, в результате чего инвазия опухоли в указанные протоки по данным ряда авторов достигает 100%. Микроинвазия протоков S1 печени обуславливает необходимость проведения резекции этого сегмента с целью достижения радикальности оперативного вмешательства [16, 91].

Резекция R0 является единственным радикальным вмешательством при опухоли Клатскина, но по данным литературы достигается только в 32-87% операций [5, 25, 39, 86, 91].

Радикальное хирургическое лечение включает в себя резекцию конфлюэнса печеночных протоков и ГГЭ с удалением I сегмента печени, а также лимфаденэктомию (скелетизацию ГДС, передней и задней групп панкреатодуоденальных лимфатических узлов, а также лимфатических узлов вдоль общей печеночной артерии), что позволяет увеличить отдаленную выживаемость [70, 109, 131].

Однако общая выживаемость больных, которым выполнена R1 или R2 резекция, значительно выше, чем у тех, кому оперативное вмешательство не проводится [12]. Медиана выживаемости 18,9 мес (95% CI=12.5-24.7) и 5.0 мес (95% CI=0-6.9), соответственно ($P < 0.001$) [115]. В исследовании Otani K. и соавт. медиана выживаемости 22 и 9 месяцев, соответственно ($p = 0.0007$) [97].

Большинство больных с опухолью Клатскина поступают с признаками механической желтухи, и выполнение резекции печени в этих условиях связано с высоким риском послеоперационных осложнений [5, 24, 109, 113].

Послеоперационные осложнения, развивающиеся у оперированных больных по поводу опухоли Клатскина, следующие: билиарный свищ (19,6 - 25,3%), печеночная недостаточность (17,1%), поддиафрагмальный абсцесс (13,7%), сепсис (12,3%), легочные осложнения (9,6%), сердечно-сосудистые осложнения (5,5%), внутрибрюшное кровотечение (4,8%), асцит (2,7%) и другие (до 8,9%), а именно: несостоятельность билиодигестивного анастомоза, холангит, раневая инфекция, биломы, внутripеченочные абсцессы [10, 39, 95, 112].

По результатам многофакторного анализа в 2010 г. Hirano S. и соавт. пришли к выводу о том, что время оперативного вмешательства при опухоли Клатскина является единственным независимым прогностическим фактором развития послеоперационных осложнений ($p = 0,04$) [64].

С целью снижения риска развития послеоперационных осложнений резекции печени, которые, по данным ряда авторов, достигают от 47,5% до 86,1%, во многих клиниках рекомендуется проводить предоперационное билиарное дренирование [11, 23, 25, 64, 112].

В настоящее время методики и показания для билиарного дренирования у пациентов с механической желтухой перед резекцией печени при ВХ остаются предметом дискуссии [72, 130]. Обширные резекции печени у таких больных повышают риск развития послеоперационной печеночной недостаточности [54]. Опыт MSKCC показал, что прогнозируемый послеоперационный остаток печеночной ткани менее чем 30% является абсолютным показанием для проведения билиарного дренирования [73].

Kloek J.J. с соавторами в своей статье указывают, что эндоскопическое дренирование приводит к увеличению риска развития холангита (до 48%) вследствие бактериальной контаминации из просвета ДПК, также повышается риск развития таких осложнений как перфорация ДПК (1,12%), перфорация желчных протоков (1,12%) и послеоперационный панкреатит (7,8%). Напротив, при проведении ЧЧХС высок риск развития гемобилии (9,1%), тромбоза ВВ (до 9%), диссеминации раковых клеток (до 5,2%), при этом данная методика менее

комфорта для пациента. Авторы указывают на то, что холангит может развиваться и при ЧЧХС при переводе на внутреннее дренирование (9%) [74].

В своей статье Paik W.H. и соавт. указывают на то, что при планируемой правосторонней гемигепатэктомии (ПГГЭ) при опухоли Клатскина типа IIIA или IV по Bismuth-Corlette или для предоперационной эмболизации ветвей воротной вены с химиолучевой терапией следует настоятельно рекомендовать предоперационное дренирование желчных протоков [98].

По данным отечественных авторов, при уровне гипербилирубинемии более 200 мкмоль/л показана предоперационная декомпрессия желчных протоков, которая может быть уни- и билобарной, при этом плановые оперативные вмешательства проводятся через 2–4 недели от момента декомпрессии [6, 22].

В качестве адекватного паллиативного лечения обструктивного холестаза, по мнению Park Y.J. и соавт., достаточно достигнуть дренирования 25% объема печени [101]. Однако в этой же статье авторы ссылаются на исследование Vulajic M. и соавт., которые указывают на то, что эффективной декомпрессия билиарной системы будет при достижении дренирования более 50% паренхимы печени [36].

С целью профилактики развития послеоперационной печеночной недостаточности в результате обширной резекции многие учреждения прибегли к внедрению эмболизации ветвей воротной вены для увеличения объема пострезекционного остатка печени [12, 15, 67, 87]. В некоторых хирургических центрах в случае, если объем печени после резекции будет составлять 40% и менее от общего эмболизация ветви воротной вены проводится при снижении уровня билирубина в сыворотке крови менее чем 10 мг/дл. Операция выполняется спустя 2-4 недели, при достижении необходимого объема планируемого остатка паренхимы печени вследствие ее гипертрофии [64, 92, 138].

В исследовании Belghiti J. было показано, что билиарное дренирование необходимо в предоперационном периоде в связи с тем, что эта манипуляция облегчает в дальнейшем процессы гипертрофии оставшейся после резекции печеночной ткани. В случаях, если ожидается, что остаток печени будет менее 30-40%, как предоперационный метод лечения должна быть рассмотрена

эмболизация воротной вены. Автор указывает, что проведение резекции показано через 4-6 недель после проведения дренирования и эмболизации ветви ВВ [30]. Такого же мнения придерживаются в своей статье Мураками Y. и соавт., считая, что при пострезекционном остатке печени объемом менее 40% показано проведение эмболизации ветвей воротной вены [85].

Таким образом, по данным литературы, необходимо проведение билиарного дренирования предполагаемой остающейся паренхимы печени, что позволит снизить уровень билирубина сыворотки крови, тем самым облегчая развитие в дальнейшем гипертрофии печеночной ткани и снижая риск развития послеоперационных осложнений.

Группой ученых из Германии под руководством Neuhaus P. была предложена методика «резекция ворот печени единым блоком» (" hilar en bloc resection") при опухолях Клатскина IIIA по Bismuth-Corlette, которая включает в себя резекцию внепеченочных желчных протоков, резекцию воротной вены, правой печеночной артерии, с резекцией I сегмента печени и с IV по VIII сегменты. Авторы начали применять методику с 1990 г. и в своем исследовании, опубликованном в 2012 г., провели сравнение результатов лечения с традиционными рГГЭ при ВХ. 1-, 3- и 5-летняя выживаемость после «резекции единым блоком» составила 87%, 70% и 58%, соответственно ($p=0,021$). При традиционном вмешательстве выживаемость составила 79%, 40% и 29%, соответственно. Характер опухолевого поражения был сравним в обеих группах. Большое число больных с опухолями pT3 и pT4 и с поражением регионарных лимфоузлов были представлены в обеих группах [91].

Machado M.A. в своей статье, указал, что описанная ранее методика обоснована тем, что правая ветвь ВВ и печеночная артерия часто инфильтрированы опухолью в связи с их тесным контактом, левая же печеночная артерия проходит вдоль левого края ворот печени и чаще не вовлечена в патологический процесс. Этим автор объясняет высокую частоту получения R0 резекции [80].

В исследовании Котенко О.Г., опубликованном в 2013 г., были сделаны выводы, что нет существенных отличий в летальности в раннем

послеоперационном периоде и пятилетней выживаемости у больных с хиллярной холангиокарциномой с инвазией в воротную вену, которым резекционные вмешательства на печени дополнялись резекцией ВВ, по сравнению с пациентами без резекции ВВ [16]. Аналогичные данные были получены в мета-анализе, проведенном Chen W. и соавт. в 2014 году [38].

Nuzzo G. показал, что частота R0 резекции была выше после комбинированной резекции печени, чем после резекции только конfluence желчных протоков и составила 79,2% и 65,6%, соответственно. При этом послеоперационная летальность после обширной резекции печени составила 10,1% (38 из 376 больных). Также в этом исследовании отмечено, что 5-летняя общая выживаемость после резекции R0 составляет в среднем 35,2%. При этом авторами было определено, что 5-летняя выживаемость при резекции печени в сочетании с резекцией конfluence печеночных протоков составила 26,6%, 10-летняя общая выживаемость 20,0%, в то же время выживших в течение 5 лет при резекции только конfluence печеночных протоков отмечено не было [95].

Ряд авторов рекомендует при распространении опухоли на внутрипанкреатическую часть общего желчного протока, что может быть выявлено при предоперационном обследовании или интраоперационно при срочном гистологическом исследовании, выполнение панкреатодуоденальной резекции [46, 64].

По данным литературы, в случае выполнения резекции опухоли R0 показатели пятилетней выживаемости оперированных больных достигают 37-50% [13, 91].

В 2006 г. коллективом авторов из Японии была опубликована статья о результатах лечения 102 больных с ВХ. Показано, что использование алгоритма, включающего: предоперационное дренирование билиарного тракта; эмболизация ветвей воротной вены (для правосторонней и расширенной левосторонней резекции печени) и проведение расширенной гепатобилиарной резекции, позволяет избежать послеоперационной летальности. При этом авторы показали, что фактором риска осложнений в раннем послеоперационном периоде (до 50%

всех больных, включенных в наблюдение) после обширных резекций печени является развитие у больного обтурационного холецистита и холангита в предоперационном периоде [112].

Использование лапароскопического метода в хирургическом лечении опухоли Клатскина в настоящее время остается спорным [3]. Ряд зарубежных исследователей пришли к выводу, что лапароскопическая и робот-ассистированная резекция печени и желчных протоков могут быть операциями выбора у больных воротной холангиокарциномой I и II типом по Bismuth-Corlette [52, 59, 78, 135].

Однако большинство больных госпитализируются на поздних стадиях болезни, когда определяются распространенные метастатические поражения. В таких случаях необходимо рассматривать варианты паллиативного вмешательства [1, 49, 77, 130]. Согласно мнению Британской Ассоциации, занимающейся изучением заболеваний печени, целью паллиативного лечения являются улучшение качества жизни посредством устранения механической желтухи, облегчения болевого синдрома, холангита и кожного зуда и возможное увеличение продолжительности жизни [101].

Lau S.H. указывает, что в случаях невозможности проведения радикального вмешательства, диагностированной интраоперационно, в качестве паллиативных методов лечения используются стентирование желчных протоков пластиковыми или металлическими стентами (эндоскопически или чрескожно), интраоперационная установка стента через опухоль (включая использование T-образного дренажа, транспеченочного стента или U-образного стента) [76].

Основным недостатком пластиковых стентов является их быстрая обтурация, которая связана со сравнительно малым просветом (от 10 до 12 Fr) дренажной трубки относительно ее длины [118]. Главной причиной закупорки стента является бактериальная контаминация недренированных желчных протоков [101]. Миграция стента также является одним из серьезных осложнений, требующих повторного вмешательства [81]. При установке самораскрывающихся

металлических стентов такое осложнение является относительно редким [8, 58, 74, 92].

По мнению Глебова К.Г. и соавт., ожидаемая продолжительность жизни более 6 месяцев является показанием к стентированию металлическими стентами, при ожидаемой продолжительности жизни менее 4-6 месяцев и наличии механической желтухи тяжелой степени показана постановка пластикового стента [8].

ЧЧХС является альтернативным методом в случае невозможности проведения эндоскопического дренирования, что обычно связано с техническими трудностями. ЧЧХС может проводиться наружным, наружно-внутренним и внутренним методом [48]. Методика включает в себя постановку тонкой иглы Chiba в просвет желчного протока под ультразвуковым или рентгенологическим контролем. Далее проводится антеградная холангиография для определения места обструкции с последующей постановкой проводника за стриктуру. После по проводнику устанавливается дренажная трубка, дистальный конец которой устанавливается супрапапиллярно в холедох или транспапиллярно в просвет ДПК [76]. Дренаж остается открытым в течение 48 часов (наружно-внутреннее дренирование), после чего он перекрывается, чтобы добиться внутреннего дренирования [74].

ЧЧХС наиболее широко распространена, однако несколько проспективных рандомизированных исследований показали, что эта методика не снижает послеоперационную летальность и количество послеоперационных осложнений, повышая при этом вероятность развития инфекционных осложнений, повреждения сосудов и распространения опухолевых метастазов [48]. В настоящее время в большинстве центров предпочитают эндоскопическое НБД, что связано с меньшим количеством осложнений. Совсем недавно исследователи показали, что одностороннее НБД потенциального остатка печени показывает лучшие результаты в качестве эффективного и пригодного метода билиарного дренирования при опухоли Клатскина типа III и IV по Bismuth-Corlette [2, 134].

За последнее десятилетие ОТП продемонстрировала перспективы в лечении нерезектабельных форм опухолей Клатскина [43]. В обзорной статье Soares K.C. и соавторов указывается, что на начальных этапах внедрения методики результаты были неудовлетворительными, и 5-летняя выживаемость составляла не более 20-30% [119].

В клинике Мейо при комбинированном подходе в лечении опухоли Клатскина использовался протокол, позволивший добиться 60% 5-летней выживаемости у тщательно отобранных больных с нерезектабельными воротными холангиокарциномами, возникшими на фоне ПСХ [44, 62]. Показанием к проведению ОТП является развившаяся на фоне первичного склерозирующего холангита ВХ (любой тип по классификации Bismuth-Corlette, нерезектабельная опухоль Клатскина (по классификации Bismuth-Corlette тип IV), стадия T1-2N0M0 без признаков инвазии в магистральные сосуды [76].

Протокол лечения включал внешнюю лучевую терапию (40-45 Гр), транскатетерное облучение (20-30 Гр) через эндоскопически установленный назобилиарный дренаж или через чрескожный транспеченочный дренаж с радиочувствительным 5-фторурацилом и последующим пероральным приемом капецитабина до дня трансплантации. Критериями исключения при постановке в лист ожидания трансплантации печени были локализация новообразования ниже пузырного протока, размеры опухоли более 3 см, наличие внутри- и внепеченочных метастазов, наличие в анамнезе чрескожной биопсии опухоли [55, 62, 108].

Современные стандарты химиотерапии при нерезектабельных формах ВХ основаны на применении препаратов платины в комбинации с гемцитабином. Однако результаты лечения остаются неудовлетворительными и характеризуются незначительным улучшением показателей выживаемости в этой группе больных [57, 119, 124].

В настоящее время с учетом знания допустимых доз лучевой нагрузки, с целью исключения лучевого поражения органов-риска (особенно толстая кишка и желудок), применяют в качестве методов лечения интенсивную модуляционную

радиотерапию и стереотаксическую радиотерапию (SBRT). Использование SBRT позволяет доставить высокие дозы радиации в необходимые места за более короткий временной интервал (менее 2 недель). Такой метод лечения имеет перспективы при развитии местных рецидивов ХЦР [103].

Роль химиотерапии при воротной холангиокарциноме в настоящее время активно обсуждается ввиду разнородных данных об эффективности ее применения в различных клинических исследованиях [25]. Слаборазвитая сосудистая сеть опухоли не позволяет накопить химиопрепарат в концентрации, необходимой для получения цитостатического эффекта, даже при введении его в регионарную артерию [19].

В настоящее время в комплексном лечении больных опухолью Клатскина, не подлежащих радикальному оперативному лечению, активно внедряется методика внутрипротоковой лучевой терапии (брахитерапии), которая представляет собой многоэтапную процедуру [21]. Доступом является ЧЧХС. Источник высокой дозы излучения (стержни Иридия-192) подводится непосредственно к опухоли по транспеченочному катетеру, установленному в протоке печени. По данным литературы, внутрисветная лучевая терапия может способствовать улучшению результатов лечения больных опухолью проксимальных внепеченочных желчных протоков [20, 77].

Некоторые авторы считают, что в дополнение к внешней лучевой терапии внутрипротоковая брахитерапия нитями иридия-192, вводимыми через чрескожную гепатикостому к месту локализации злокачественной опухоли, в дальнейшем может улучшить результаты лечения этой группы больных [21, 77].

В настоящее время проводятся исследования, посвященные применению фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении больных опухолью Клатскина, суть которой заключается во внутривенном введении фоточувствительного агента – порфимера (Photofrin, Photosan), накапливающегося в опухолевой ткани [128]. При активации препарата образуются свободные радикалы кислорода, которые приводят к повреждению клеток самой опухоли и окружающих её [51, 104].

Показания к проведению ФДТ следующие [77]:

1. склерозирующий тип опухоли без гематогенных метастазов независимо от наличия метастатического поражения лимфатических узлов;
2. папиллярный тип роста опухоли;
3. резидуальная опухоль после R1-резекции.

В ряде исследований было показано, что медиана выживаемости при ФДТ, как неoadьювантной терапии, составила от 330 до 493 дней после установки диагноза и 1-летняя выживаемость составила от 45% до 83% [25, 51, 104, 119, 129].

1.9. Выживаемость у больных воротной холангиокарциномой

По данным современной литературы, 5-летняя выживаемость после хирургического лечения ВХ составляет от 10 до 58% [5, 43, 64, 134]. При этом даже при выполнении резекции R0, частота рецидивов достигает 39,4-70% [61, 64, 65, 91, 105].

В обзоре к своей статье Vin Yi и соавт. приводят следующие показатели выживаемости при радикальном хирургическом лечении опухоли Клатскина: 3-, 5- и 10-летняя выживаемость составляет от 30 до 43%, от 11 до 43%, и ниже 18%, соответственно. Медиана выживаемости от 19 до 35 месяцев [134]. В исследовании Hirano S. и соавт. (2010) 1-, 3- и 5-летняя выживаемость составила 81,4%, 52,9% и 35,5%, соответственно [64].

По данным Wang Y. и соавт., общая 1-, 3- и 5-летняя после радикальных операций составила 62,6%, 42,4%, 23,7%, соответственно. При выполнении паллиативных вмешательств - 51,3%, 22,4%, 4,5%, соответственно [127].

Продолжительность жизни после паллиативного наружного билиарного дренирования составила $3,2 \pm 1,8$ мес., после эндоскопического стентирования – $7,0 \pm 3,4$ мес.[23].

Согласно данным Nagino M. и соавт. при R0, pN0 и pM0 5-летняя выживаемость среди оперированных больных составила около 67,1% [86].

Большинство исследований в настоящее время посвящено анализу различных лабораторных и клинико-патологических параметров воротной холангиокарциномы и их влиянию на отдаленные результаты лечения.

Согласно руководству Национальной онкологической сети (США) (National Comprehensive Cancer Network, 2016) выполнение нерадикальной операции (R1/R2 резекция) и метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов у больных воротной холангиокарциномой являются значимыми факторами неблагоприятного прогноза. При этом рекомендации NCCN основаны на мета-анализе данных лечения больных с холангиоцеллюлярным раком различной локализации, включая ретроспективные серии и только одно рандомизированное контролируемое исследование результатов лечения рака желчного пузыря.

Исследование Groot Koerkamp В. и соавт. показало, что недостаточно использовать для определения вероятности плохого прогноза течения заболевания такие факторы как радикальность операции и регионарное метастазирование опухоли. Авторы определили, что степень дифференцировки клеток опухоли также является достоверным фактором прогноза заболевания [56].

В 2014 году японскими учеными было опубликовано исследование, основанное на результатах лечения 1352 больных. Общая 1-, 3-, 5- и 10-летняя выживаемость оперированных пациентов составила 83,5%, 53,1%, 40,4% и 29,9%, соответственно. К прогностически значимым факторам отнесены сосудистая инвазия и распространение клеток опухоли на интрапанкреатический отдел холедоха, «положительный» край резекции, стадии N1 и M1 [46].

Анализ литературы показал, что низкая общая выживаемость обусловлена следующими факторами: периневральная и сосудистая инвазия, R1 и R2 резекция, метастазы в лимфатические узлы, внутривенное метастазирование опухоли, стадия заболевания III и выше (по TNM), T стадия 3 и выше, степень дифференцировки опухолевых клеток G2 и ниже, возраст старше 60 лет, инвазия в хвостатую долю (SI) печени [35, 56, 120, 125].

Таким образом, вопросы диагностики, лечения, прогноза у больных опухолями Клатскина в настоящее время сохраняют свою актуальность. Выполнение обширных резекций печени, сочетание их с резекцией и последующей реконструкцией сосудистых структур, разработка новых химиопрепаратов и внедрение новых протоколов предоперационной подготовки и

послеоперационного ведения больных позволили улучшить отдаленные результаты лечения.

Следует отметить, что отдаленные результаты хирургического лечения во многом зависят не только от подхода к отбору пациентов и объема хирургического вмешательства, но и от «биологических» характеристик самой опухоли. Анализ литературы показал, что в основном при исследовании биомолекулярных маркеров опухоли определяют только взаимосвязь между степенью экспрессии опухолевых маркеров и отдаленными результатами лечения без учета основных клинико-патологических характеристик опухоли.

Отдельного рассмотрения требует проблема поиска и выбора прогностически значимых факторов опухоли Клатскина, определяющих течение заболевания в послеоперационном периоде. При анализе отдаленных результатов хирургического лечения до сих пор не учитываются комплексно молекулярно-генетические и морфологические аспекты опухоли, что, по нашему мнению, важно с точки зрения отдаленного прогноза течения заболевания.

Наряду с этим существуют единичные прогностические модели для холангиоцеллюлярного рака, которые представляют собой номограммы, т.е. функция от нескольких переменных, представленная графически, с помощью простых геометрических операций, определяющая функциональные зависимости без вычислений [56, 120].

Таким образом, разработка метода оценки индивидуального прогноза у больных с опухолями проксимальных внепеченочных желчных протоков является перспективным научным направлением и имеет важное клиническое значение. Изучение молекулярной биологии опухоли Клатскина позволит выделить факторы опухоли, которые можно использовать в качестве дополнительных критериев, определяющих лечебную тактику у пациентов с воротной холангиокарциномой.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе отделения хирургии печени и поджелудочной железы (отделение абдоминальной хирургии №2) и отделе патологической анатомии с лабораторией электронной микроскопии ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России.

С 2011 по 2015 г. на лечении в Институте находилось 55 пациентов с опухолью проксимальных внепеченочных желчных протоков. Согласно классификации Bismuth-Corlette (1975 г.) тип II (вовлечение печеночного конfluence) выявлен у 2 (3,6%) пациентов, у 21 (38,2%) - выявлен тип III. У 8 (14,5%) больных - тип IIIa (распространение опухоли на правый долевого печеночный проток), у 13 (23,7%) больных - тип IIIb (распространение на левый долевого печеночный проток). У 32 (58,2%) больных - тип IV (опухолевая инфильтрация обоих долевого печеночных протоков).

Хирургическое лечение проводили после билиарной декомпрессии у 37 (67,3%) больных. У 7 (18,9%) пациентов дренирование билиарного тракта первично было выполнено в Институте хирургии. У 30 (81,1%) больных дренирование проведено по месту жительства: у 17 (56,7%) пациентов чрескожное чреспеченочное дренирование долевого протоков, у 12 (40%) – выполнена эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография (ЭРХПГ), папиллосфинктеротомия, стентирование долевого протоков печени, у 2 (3,3%) – ЭРХПГ завершена установкой назобилиарного дренажа. От проведения оперативного вмешательства вследствие распространенности опухоли и ее осложнений, декомпенсации сопутствующих заболеваний у 18 (32,7%) больных отказались (статистический анализ не проводился). Медиана послеоперационного пребывания больного в стационаре составила 27 койко-дней (8-52 к/д). Летальный исход был в 1 (2,7%) случае, что обусловлено развитием острой печеночно-почечной недостаточности в раннем послеоперационном периоде.

Проанализированы результаты хирургического лечения 36 больных воротной холангиокарциномой за период с 2011 по 2015 гг.

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). Средняя длительность анамнеза заболевания до поступления в Институт хирургии – $106,8 \pm 97,14$ дней (от 25 до 730 дней).

Обследование пациентов с опухолью Клатскина осуществлялось по стандартному протоколу с учетом рекомендаций NCCN (The National Comprehensive Cancer Network).

Всем больным в предоперационном периоде проводили ЭКГ, рентгенографию органов грудной клетки (отдельным больным выполнялась КТ органов грудной клетки), эндоскопическое исследование желудочно-кишечного тракта. Для определения местного распространения опухоли, исключения поражения регионарных лимфатических узлов брюшной полости и отдаленных метастазов применялись следующие инструментальные методы обследования: ультразвуковое исследование органов брюшной полости, МСКТ брюшной полости и грудной клетки, МРТ брюшной полости с МРХПГ, ЧЧХГ).

УЗИ проводилось в В-режиме и цветного доплеровского картирования с помощью аппарата Voluson 730PRO EXPERT GE Medical system (Германия), секторальными и конвексными датчиками электронного сканирования с частотой 3,5-5 МГц.

МСКТ проведена всем больным на томографе Brilliance iCT 256 фирмы Philips с внутривенным болюсным контрастным усилением и получением нативной, артериальной, венозной и отсроченных фаз. Для контрастного усиления использовались неионные рентгеноконтрастные препараты в объеме 70-100 мл (в зависимости от массы тела пациента) при концентрации йода 300-370 мг/мл, скорость введения контрастного вещества составляла 3-4 мл/сек. Для получения артериальной фазы контрастного усиления выставлялась задержка сканирования 10-12 сек от момента достижения пороговой плотности 100-110 HU в просвете

аорты на уровне диафрагмы. Венозная фаза выполнялась на 40 сек, отсроченная – на 6 мин.

МРТ органов брюшной полости (в т.ч. в режиме МРХПГ) выполнена также всем оперированным больным на аппарате Philips 3,0 T Achieva с использованием 16-канальной катушки SENSE Torso-XL. В протокол сканирования включались T1 и T2 взвешенные последовательности без подавления и с подавлением сигнала от жировой ткани, DWI с последующим построением карт ADC. Все программы исполнялись при триггерной синхронизации с дыханием, за исключением T1 с подавлением сигнала от жировой ткани (TRIVE), которая осуществлялась на задержке дыхания. Контрастное усиление не использовалось.

Методика ЧЧХГ с последующим формированием ЧЧХС: после диагностического поиска пункционной иглой с введением неионного рентгеноконтрастного препарата в объеме 50-70 мл (в зависимости от массы тела пациента) при концентрации йода 300-370 мг/мл на кожном покрове выбирали место для оптимальной пункции желчного протока потенциально остающейся после резекции доли печени. Через разрез кожи 0,2-0,3 см проводили пункцию свободным участком диагностической иглы (наружная канюля и холангиостомический дренаж оставались снаружи от кожного покрова). Далее удалялся мандрен и аспирировалось небольшое количество содержимого желчного протока. Под рентгеноскопическим контролем в просвет протока вводили контрастное вещество и гибкий металлический проводник. С помощью упорной пластины фиксировалось положение иглы, с помощью второй упорной пластины осуществляли поступательное движение наружной канюли и дренажа по игле на расстояние, равное длине ограничительного тросика. Далее устанавливали дренаж в просвет желчного протока (при этом дистальный конец дренажной трубки устанавливается супрапапиллярно без проведения через большой сосочек в просвет двенадцатиперстной кишки (профилактика развития постманипуляционного панкреатита) и удаляли устройство - проводник. После рентгеноскопического контроля дренаж фиксировали и оставляли открытым в

течение 48 часов (наружно-внутреннее дренирование), после чего он перекрывается.

2.1. Характеристика пациентов с воротной холангиокарциномой

Данные о больных, полученные из историй болезни, включали в себя информацию о поле, возрасте, предоперационном объеме обследования и подготовке, основном этапе лечения (оперативное вмешательство), гистологическом исследовании, в том числе данные иммуногистохимического исследования, а также длительность наблюдения, дату прекращения наблюдения (вследствие наступления летального исхода и/или дата последнего визита с пациентом на амбулаторном этапе, телефонного опроса).

Всем пациентам перед основным оперативным вмешательством было выполнено дренирование желчных протоков. В предоперационном периоде адекватной декомпрессии желчных путей и разрешения механической желтухи по клинико-лабораторным данным удалось достичь у 25 (69,4%) больных; желтуха легкой степени тяжести (менее 100 мкмоль/л) определялась у 8 (22,2%) больных; средняя степень (от 100 до 200 мкмоль/л) у 2 (5,6%); тяжелая степень желтухи (более 200 мкмоль/л) у 1 (2,8%) пациента. Показатель билирубинемии перед хирургическим вмешательством составлял от 8,18 мкмоль/л до 222 мкмоль/л (медиана 35,11 мкмоль/л).

Клинико-морфологические факторы, определяющие адекватный выбор объема хирургического вмешательства, были следующими: стадия опухолевого процесса (TNM), тип распространения опухоли по классификации Bismuth-Corlette, степень дифференцировки клеток опухоли, наличие сосудистой и периневральной инвазии, «позитивный» край резекции.

К молекулярным факторам, которые определены как значимые для прогноза течения заболевания, отнесены N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6, CK7, CK20. Указанные факторы были отобраны нами как значимые на основе данных литературы. Однако проведенный анализ литературы показал, что в большинстве имеющихся сейчас исследований изучена только взаимосвязь между степенью

экспрессии опухолевых маркеров и отдаленными результатами лечения без комплексного анализа с учетом основных клинико-морфологических характеристик опухоли.

Распределение пациентов с опухолью Клатскина в зависимости от стадии опухолевого процесса (согласно VII изданию классификации AJCC (2010) и типа распространения опухоли (согласно классификации Bismuth-Corlette), объема оперативного вмешательства, патогистологических факторов опухоли представлено в таблицах 2.1 – 2.5.

Таблица 2.1. Распределение пациентов по стадиям и типу распространения воротной холангиокарциномы (n=36)

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%)

*резекции печени при стадии IVb выполнены в случаях унилобарного метастатического поражения печени.

Как видно из таблицы, в исследовании преобладали пациенты с IV типом распространения заболевания согласно классификации Bismuth-Corlette (у 24 (66,7%) больных, при этом локализация опухоли в области конfluence долевых протоков без вовлечения последних была диагностирована только у 2 (5,6%) больных, что определяло сложность выполнения радикальной операции. Согласно системе TNM (2010) в 10 (27,8%) случаях были оперированы больные с IVa и IVb

стадий, что было диагностировано только после интраоперационной ревизии и получения результатов гистологического исследования.

Варианты хирургического вмешательства у пациентов с опухолью Клатскина, представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2. Варианты оперативных вмешательств в зависимости от их объема (n=36)

Объем операции	Количество
Изолированная резекция внепеченочных желчных протоков с конфлюэнсом	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 воротной вены	3 (8.3%)
Желчные протоки + ПГГЭ+ резекция/протезирование воротной вены	1 (2.8%)

Из представленной таблицы видно, что чаще выполнялись ГГЭ с резекцией желчных протоков (у 15 (41,7%) больных) и расширенные резекции печени (у 8 (23,1%) больных), резекция S1 печени выполнена в 16 (44,4%) случаях; у 1 (2,7%) пациента выполнена изолированная резекция внепеченочных желчных протоков с конфлюэнсом долевых печеночных протоков. У 4 (11%) больных резекция печени сочеталась с резекцией ВВ с последующим протезированием. Необходимо отметить, что объем резекции зависел от типа распространения опухоли по классификации Bismuth-Corlette и стадии опухоли по системе TNM.

Хирургические вмешательства в зависимости от степени радикальности операции (R) в соответствии с классификацией Международного противоракового союза приведены в таблице 2.3.

Радикальным вмешательство (резекция R0) считалось при отсутствии опухолевых клеток в краях резекции желчных протоков, сосудистых структур и/или паренхимы печени при микроскопическом исследовании. R1 резекция определена как наличие клеток опухоли в одном из вышеупомянутых хирургических краев. Резекция R2 была определена как резекция с наличием макроскопически видимой ткани опухоли в одном или нескольких хирургических краях.

Таблица 2.3. Хирургические вмешательства при опухоли Клатскина в зависимости от степени радикальности (n=36)

Радикальность операции (R)	Количество	
	абс.	%
R0	15	41,7
R1	19	52,7
R2	2	5,6

Из таблицы следует, что резекция опухоли R1 выполнена более чем в половине случаев (у 19 (52,7%) больных). Циторедуктивная операция выполнена у 2 (5,6%) пациентов. R0 резекция достигнута у 15 (41,7%) больных, несмотря на преобладание в исследовании больных с поздними стадиями заболевания (III-IV стадией TNM).

Во всех случаях интраоперационно нами были исследованы дистальный и проксимальный края резекции желчных протоков. При наличии клеток опухоли в проксимальном крае резекции и технической возможности выполнения резекции желчного протока последняя выполнялась, в остальных случаях формировался билиодигестивный анастомоз на транспеченочном дренаже. В дистальном крае резекции общего желчного протока у 2 (5,6%) больных было

выявлено наличие клеток опухоли, однако, учитывая тяжесть общего состояния больных, от проведения панкреатодуоденальной резекции принято решение воздержаться.

Особую проблему в радикальном хирургическом лечении опухоли Клатскина представляет IV тип распространения опухоли по Bismuth-Corlette (таблица 2.4).

Таблица 2.4. Характер оперативных вмешательств при IV типе по Bismuth-Corlette (n=24)

Объем операции	Количество	R
Желчные протоки + ЛПГЭ (+ резекция ВВ в 1 случае)	2 (8.3%)	R0-1 (4,15%) R1-1(4,15%)
Желчные протоки + ЛПГЭ + SI (+ резекция ВВ в 2 случаях)	6 (25%)	R0-2 (8,3%) R1/2 - 4 (16,7%)
Желчные протоки + РЛПГЭ + SI	2 (8.3%)	R0-1 (4,15%) R1-1(4,15%)
Желчные протоки + ППГЭ	5 (20,8%)	R0 - 3 (12,5%) R1- 2(8,3%)
Желчные протоки + РППГЭ (в том числе + SI) (+ резекция ВВ в 1 случае)	7 (29,3%)	R0-2 (8,3%) R1/2 - 5 (21%)
Желчные протоки + Прочие сегментэктомии (SIV).	2 (8.3%)	R1-2 (8.3%)

Из таблицы следует, что при IV типе опухоли хирургическое лечение носит в основном условно-радикальный характер, т.е. относится к R1. Резекция R0 была достигнута в 9 (37,5%) случаях, R1 – 13 (54,2%), R2 – 2 (8,3%). Резекция ВВ проведена в 4 (16,7%) случаях, при этом R0 резекция достигнута у 1 (4,15%) больного, R1 в 3 (12,5%) случаях (что связано с распространением опухоли на

сегментарные протоки остающейся паренхимы печени и техническую невозможность проведения их резекции).

При выполнении хирургического вмешательства обязательным условием была лимфодиссекция ГДС (лимфатические узлы 12 группы) и скелетизация воротной вены и собственной печеночной артерии, с целью повышения точности послеоперационного стадирования онкологического заболевания. Расширенную лимфодиссекцию лимфоузлов 5, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 16 и 17 групп согласно Японской классификации лимфатических узлов не проводили (таблица 2.5).

Таблица 2.5. Распределение больных по наличию поражения лимфатических узлов гепатодуоденальной связки (n=36)

Стадия N опухоли, согласно классификации TNM	Число больных, абс., %
N0	25 (69,1%)
N1	11 (30,6%)

Как видно из указанной таблицы, подавляющее большинство пациентов (25(69,1%)) не имели опухолевых клеток в регионарных лимфатических узла.

Результаты гистологического исследования биопсийного материала приведены в таблице 2.6.

Таблица 2.6. 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%)

Из представленной таблицы следует, что 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).

После проведения операции адъювантная химиолучевая терапия проведена у 7 из 36 (19,4%) больных. У 4 из 7 больных проведена только системная химиотерапия (2 пациентам проведено 4 курса комбинированного (гемцитабин + цисплатин) режима химиотерапии, 2 больным - монокимиотерапия с использованием препарата гемцитабин (Гемзар) – 6 курсов). Внутривнутрипротоковая лучевая терапия проведена у 3 из 7 пациентов (от 2 до 4 курсов, включающих 10 сеансов (суммарная очаговая доза составила 60 Гр)), при этом у 2 больных комплексная терапия включала также системную полихимиотерапию (2 пациентам проведено 4 курса комбинированного (гемцитабин + оксалиплатин).

2.2. Биомолекулярные маркеры прогноза заболевания и продолжительности жизни

На базе отдела патологической анатомии с лабораторией электронной микроскопии ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России нами были исследованы следующие молекулярные факторы прогноза у больных опухолями проксимальных желчных протоков: СК7, СК20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6.

N-кадгерин — мембранный белок, гликопротеин из надсемейства кадгеринов, относится к основным молекулярным маркерам эпителиально-мезенхимального перехода, последний реализуется при снижении экспрессии цитокератинов, повышении экспрессии белков виментина, Snail и N-кадгерина мембран клеток и β -катенина ядерной локализации [29, 35].

Ki 67 - ядерный белок, который отражает уровень клеточной пролиферации, оценивается как показатель скорости роста опухоли и ее агрессивности (инвазивный потенциал) [35]. Также имеются исследования, показавшие, что

приведенный маркер коррелирует со стадией опухолевого процесса и инфильтрацией опухолевыми клетками [136].

Муцины представляют собой высокомолекулярные гликопротеины, синтезируемые многочисленными эпителиальными тканями для формирования защитного барьера на поверхности слизистой оболочки или могут выступать в качестве трансмембранных белков. MUC1 - представляет собой трансмембранный муцин, ряд исследований показал его важную роль в инвазивном и метастатическом потенциале ВХ. В отличие от MUC1, MUC2 действует как защитный белок и связан с опухолями муцинозного типа, как в билиарной системе, так и протоках поджелудочной железы. MUC5AC - гелеобразный секретлируемый муцин, анализируется в сочетании с другими типами муцинов для определения фенотипа опухоли (MUC 2, MUC6). Оценка уровня экспрессии этих маркеров позволяет судить о риске опухолевой прогрессии [35].

Цитокератины (СК 20, СК7) являются промежуточными кератиновыми волокнами (филаментами), которые формируют цитоплазматический цитоскелет эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта. Между экспрессией цитокератинов 7 и 20, по данным литературы, установлена прогностически значимая связь [29, 35].

Экспрессия СК7, СК20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6 определялась у 10 пациентов (за период с 2011 по 2015 гг.).

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).

Экспрессию СК7, СК20, N-cadherin, муцинов 1, 2, 5AC и 6 типа оценивали количественно: число позитивных клеток на 100 учтенных опухолевых клеток.

Определение индексов пролиферации Ki 67 вычислялось как среднее от числа меченых ядер на 100 учтенных ядер (при учете 500-1000 опухолевых клеток).

При анализе результатов выделены три группы больных:

Первую группу составили 14 больных, проживших менее 12 месяцев после оперативного вмешательства (плохой прогноз), вторую группу - 10 больных, проживших от 12 месяцев до 23,9 мес. после оперативного вмешательства (умеренный прогноз), третья группа – 12 больных, проживших более 24 мес. (хороший прогноз).

Критерии исключения: ранее выполненное оперативное вмешательство по поводу ВХ (резекция печени и внепеченочных желчных протоков) в других лечебных учреждениях, отсутствие возможности проведения гистологического исследования биопсийного материала, летальные случаи на госпитальном этапе лечения больных вследствие развития тяжелых послеоперационных осложнений (в раннем послеоперационном периоде), внепеченочное распространение ВХ, первично-множественный рак и бифазные опухоли (комбинированный гепатохолангиоцеллюлярный рак), паллиативное и симптоматическое лечение.

Также больные с ВХ были разделены на группы в зависимости от стадии заболевания (4 группы) и объема (первая группа – с резекцией S1 печени, вторая – без резекции хвостатой доли печени) резекции печени.

Принципы оценки молекулярных маркеров:

I. Принципы подсчета молекулярных маркеров при оценке мембранной и цитоплазматической экспрессии (таблица 2.7):

1. Для каждого маркера степень экспрессии оценивается полуколичественным методом с использованием 4 бальной шкалы (число клеток на 100 посчитанных, при подсчете не менее 1000 клеток):

- при условии отсутствия экспрессии в клетках опухоли данного маркера или число позитивных клеток составляет менее 5% в поле зрения – 0 баллов;

- в остальных случаях при наличии более 50% позитивных клеток в зависимости от интенсивности окрашивания присваивалось от 1 до 3 баллов.

2. Интенсивность окрашивания оценивается с использованием 4 бальной шкалы

- отсутствие окрашивания – 0 баллов;
- слабое окрашивание (+) – 1 балла,
- умеренное окрашивание (++) – 2 балла;
- интенсивное окрашивание (+++) – 3 балла.

Таблица 2.7. Сводная таблица оценки молекулярных маркеров мембранной и цитоплазматической экспрессии

Степень экспрессии	Интенсивность окрашивания	Балл
Более чем 50% позитивных клеток с интенсивностью окраски «+»	+	1
Более чем 50% позитивных клеток с интенсивностью окраски «++»	++	2
Более чем 50% позитивных клеток с интенсивностью окраски «+++»	+++	3
Число позитивных клеток менее 5% с любой интенсивностью окрашивания	-	0

II. Принципы подсчета молекулярных маркеров при оценке ядерной экспрессии:

1. Для каждого маркера степень экспрессии оценивается полуколичественным методом с использованием 2 бальной шкалы (число клеток на 100 посчитанных, при подсчете не менее 1000 клеток):

- при условии отсутствия и слабой (+) экспрессии в клетках опухоли данного маркера – 0 баллов;
- при умеренной (++) и интенсивной экспрессии (+++) – 1 балла.

II. Принципы подсчета Ki-67 при оценке ядерной экспрессии:

1. Степень экспрессии оценивается полуколичественным методом с использованием 2 бальной шкалы (число клеток на 100 посчитанных, при подсчете не менее 1000 клеток):

- при условии отсутствия и слабой (+) экспрессии в клетках опухоли данного маркера – 0 баллов;

- при умеренной (++) или интенсивной экспрессии (+++) – указывается процент позитивных клеток.

2.3. Статистическая обработка полученных результатов

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).

ГЛАВА 3. РОЛЬ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ

3.1. 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 клиничко-морфологических параметров опухоли: типа распространения опухоли по желчным протокам (тип Bismuth-Corlette), поражения регионарных лимфоузлов, а также функциональных резервов печени. Кроме того, для прогнозирования течения заболевания и оценки адекватности выбранного объема операции в послеоперационном периоде использовали предложенную нами комплексную многофакторную шкалу.

Хирургическое лечение после билиарной декомпрессии было проведено у 37 больных. В 8 (21,6%) случаях выполнена РГГЭ с резекцией внепеченочных желчных протоков. У 4 (10,8%) больных резекция печени сочеталась с резекцией ВВ (однако статистически значимого увеличения продолжительности жизни выявлено не было). У остальных больных была выполнена стандартная ГГЭ с резекцией желчных протоков с резекцией SI или без нее. Летальный исход был в 1 (2,7%) случае, что было обусловлено развитием острой печеночно-почечной недостаточности в раннем послеоперационном периоде (в исследование не включен).

В отдаленные сроки наблюдали 36 (97,3%) оперированных больных. Общая 1-, 2-, 3-, 5 -летняя выживаемость составила 77,9%, 63,4%, 31,7%, 21,1% соответственно (Рисунок 3.1). Медиана общей выживаемости составила 30,07 мес. Полученные нами результаты сопоставимы с таковыми по данным литературы.

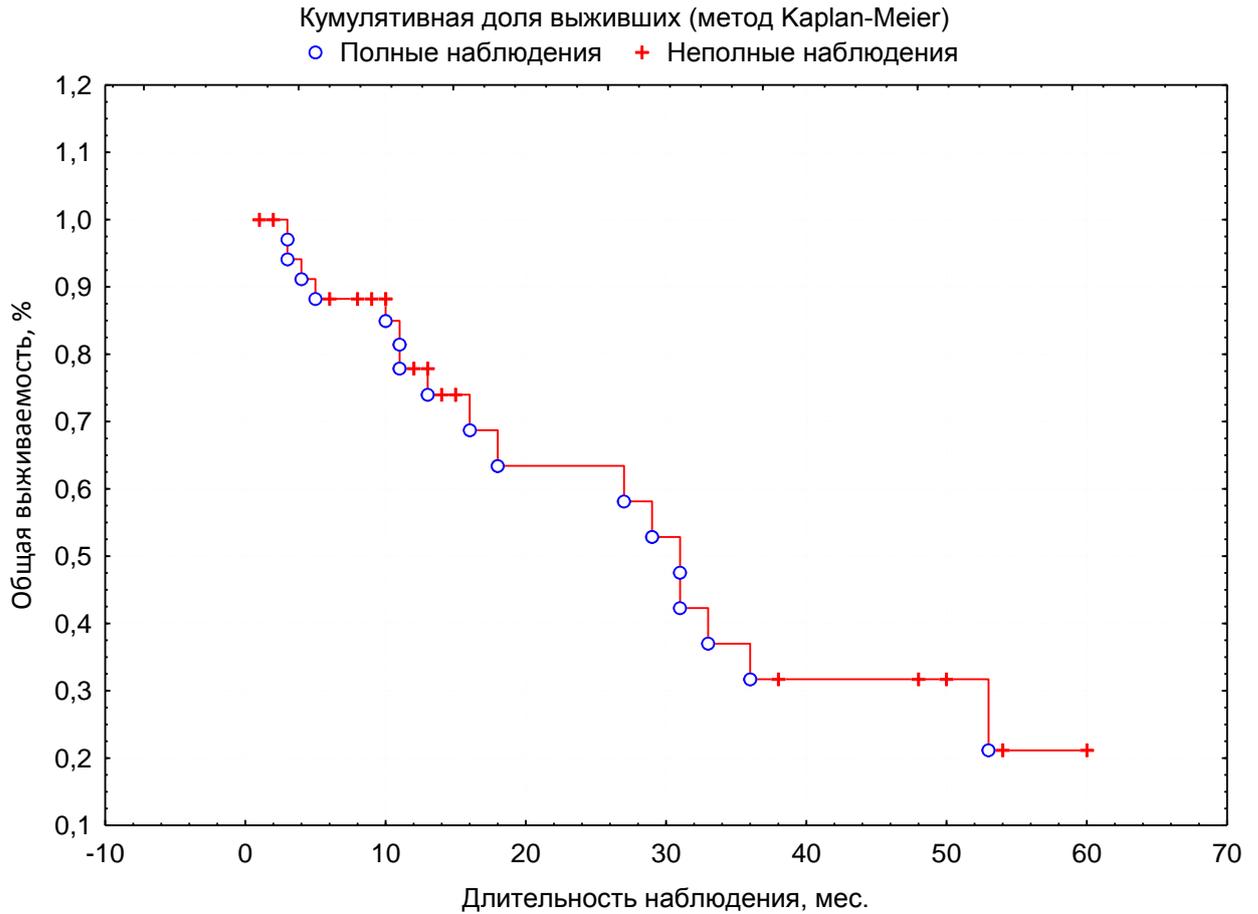


Рисунок 3.1. Общая выживаемость больных воротной холангиокарциномой после хирургического лечения ($p=0,11$).

Анализирована зависимость продолжительности жизни от изученных клиничко-морфологических факторов с помощью моно- и полифакторного анализа регрессионной модели пропорционального риска Кокса (таблица 3.1, 3.3).

Таблица 3.1. Зависимость между прогностическими факторами и продолжительностью жизни (монофакторный анализ)

Фактор прогноза	Уровень достоверности факторов, p
Макроскопический	
Тип распространения по Bismuth-Corlette	0,94
Микроскопический	
Степень дифференцировки клеток	0,00003*
Периневральная 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 SI печени	0,327
Резекция воротной вены	0,3701
Стадия заболевания (TNM)	0,028*

*Примечание: статистически достоверное значение.

Из представленной таблицы следует, что при монофакторном анализе наиболее важными предикторами выживаемости являются стадия заболевания (pTNM), степень дифференцировки клеток опухоли, наличие периневральной и сосудистой инвазии, радикальность оперативного вмешательства (край резекции). Обращает внимание то, что такие факторы как тип распространения опухоли согласно классификации Bismuth-Corlette, выполнение резекции ВВ и I сегмента печени не имеют достоверной связи с общей выживаемостью при монофакторном анализе ($p > 0,05$).

Анализирована продолжительность жизни в зависимости от статистически достоверных клинико-морфологических факторов, полученных в результате монофакторного анализа (рисунок 3.2-3.4).

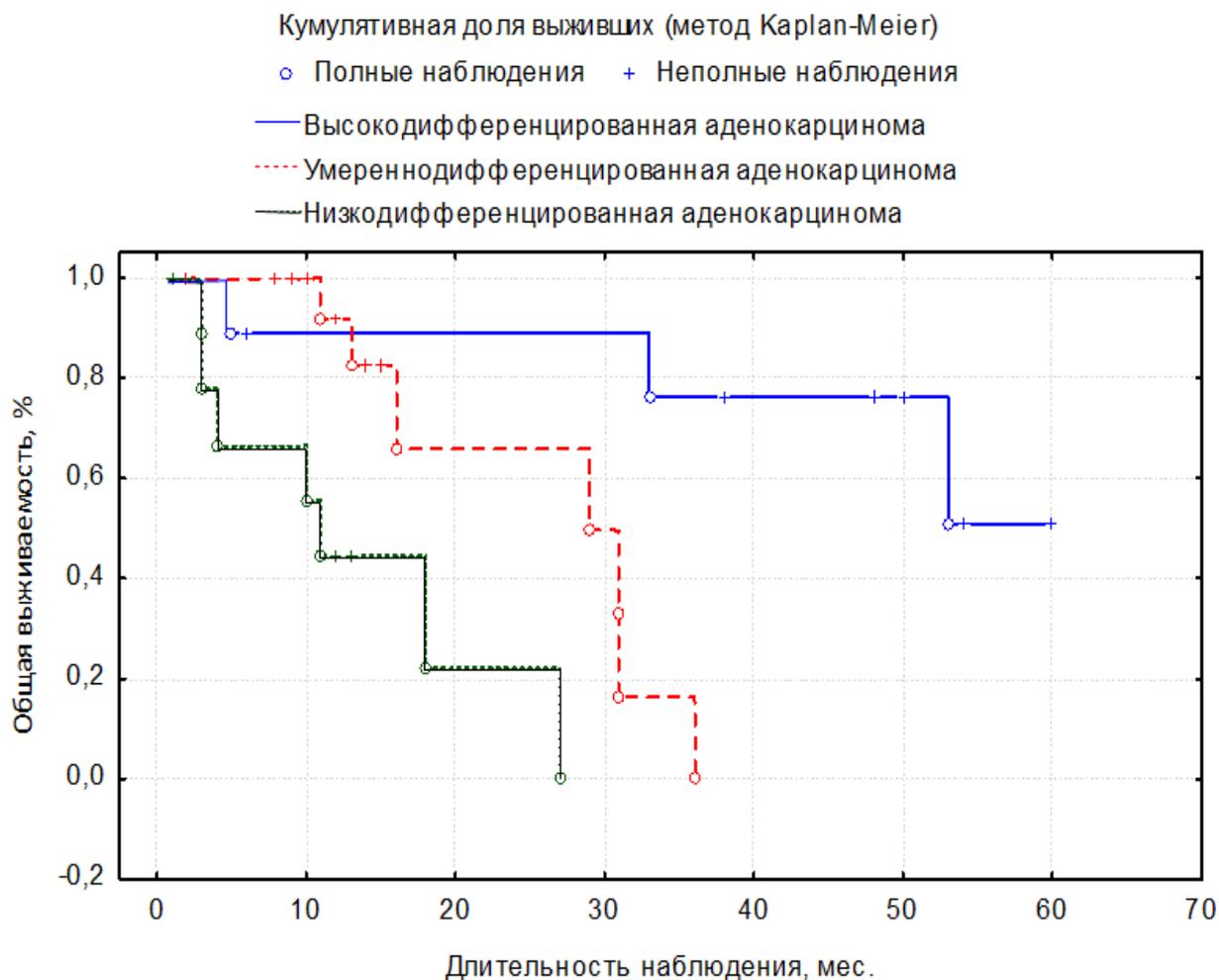


Рисунок 3.2. Зависимость общей выживаемости от степени дифференцировки клеток опухоли ($p = 0,00003$).

Представленный график показывает, что низкая и умеренная степени дифференцировки клеток опухоли в большинстве случаев определяют плохой прогноз по сравнению с пациентами, у которых опухоль состоит из клеток высокодифференцированной аденокарциномы ($p < 0,05$). При анализе отдаленных результатов лечения в зависимости от степени дифференцировки клеток выявлено, что общая 1-, 3-, 5 -летняя выживаемость среди пациентов с высокодифференцированной аденокарциномой составила 88,2%, 75,63%, 56,7% соответственно; при умереннодифференцированной аденокарциноме общая 1-, 2-,

3-летняя выживаемость составила 84,6%, 71,6%, 17,9% соответственно, 5-летней выживаемости не было. Анализ выживаемости пациентов с низкодифференцированной аденокарциномой показал следующее: общая 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 ($p=0,0362$).

Далее была проанализирована выживаемость в зависимости от радикальности проведенного оперативного вмешательства (рисунок 3.3).

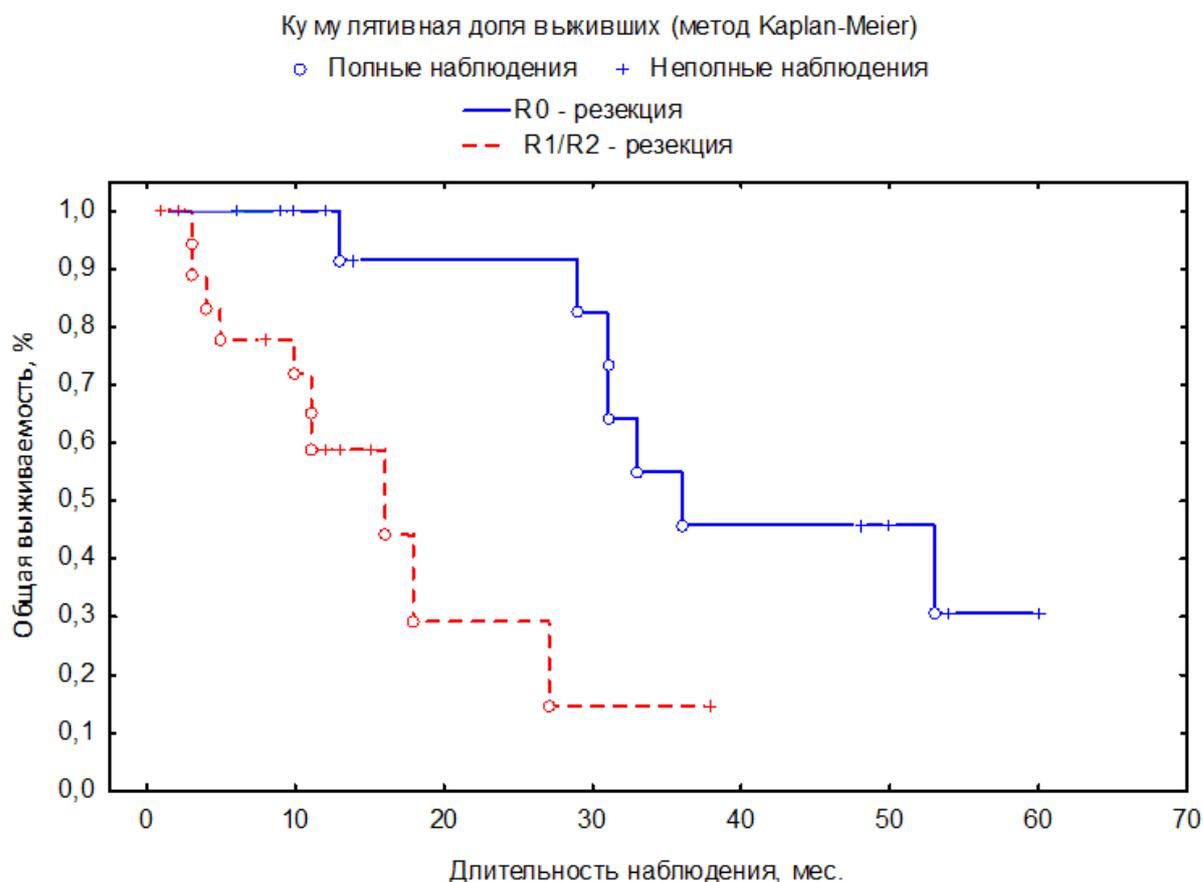


Рисунок 3.3. Зависимость общей выживаемости от края резекции R0 и R1/R2 ($p = 0,0219$).

Представленный график показывает, что проведение радикальной операции у больных ВХ определяет лучшую отдаленную выживаемость ($p < 0,05$). При сравнении общая 1-, 3-, 5-летняя выживаемость среди пациентов с R0-резекцией составила 92,3%, 46,1%, 34,6% соответственно; при R1 и R2 резекции общая 1-, 3-

-летняя выживаемость составила 78,9%, 18,8% соответственно, 5-летней выживаемости не было. Проведенный анализ общей выживаемости пациентов в зависимости от радикальности операции статически достоверен ($p=0,00449$).

При монофакторном анализе зависимости продолжительности жизни от стадии заболевания согласно классификации TNM (AJCC, VII издание) были получены результаты, которые отражены на рисунке 3.4, таблице 3.2.

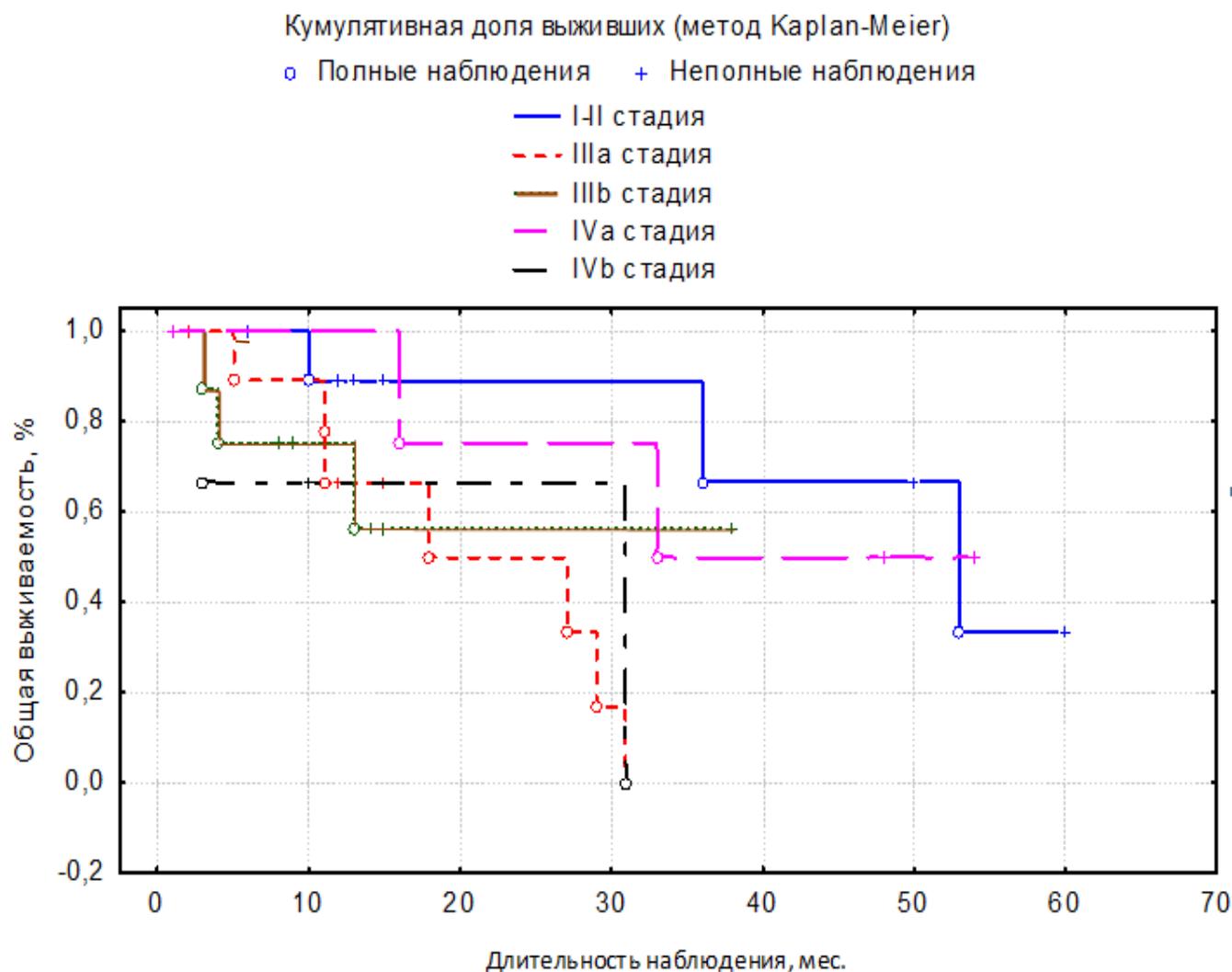


Рисунок 3.4. Зависимость общей выживаемости от стадии TNM ($p = 0,028$).

Таблица 3.2. 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 (V группа, n=3)	12	66,7
	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. Необходимо указать также, что между группами не получено статистически достоверной разницы, уровень значимости p значительно выше 0,05 ($p=0,21$).

Анализ отдаленных результатов лечения в зависимости от стадии заболевания показал, что общая 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, что может быть также связано с небольшим числом наблюдений в сравниваемых группах.

Таким образом, при прогнозировании течения заболевания в послеоперационном периоде недостаточно только определить стадию болезни, также 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.

Наряду с этим регрессионный анализ клинико-морфологических факторов проводился только для оценки ряда клиническо-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 определении послеоперационных лечебно-диагностических мероприятий у пациентов с воротной холангиокарциномой.

Для решения этой задачи был проведен полифакторный анализ с использованием регрессионной модели пропорционального риска Кокса. Полученные данные приведены в таблице 3.3, рисунке 3.5.

Таблица 3.3. Зависимость между прогностическими факторами и продолжительностью жизни (полифакторный анализ, $p = 0,00027$)

Фактор прогноза	Уровень достоверности факторов, p
Макроскопический	
Тип распространения опухоли по Bismuth-Corlette	0,096
Микроскопический	
Степень дифференцировки клеток опухоли	0,0011*
Периневральная 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 SI печени	0,0137*
Резекция воротной вены	0,94
Стадия заболевания (TNM)	0,1156

*Примечание: статистически достоверное значение.

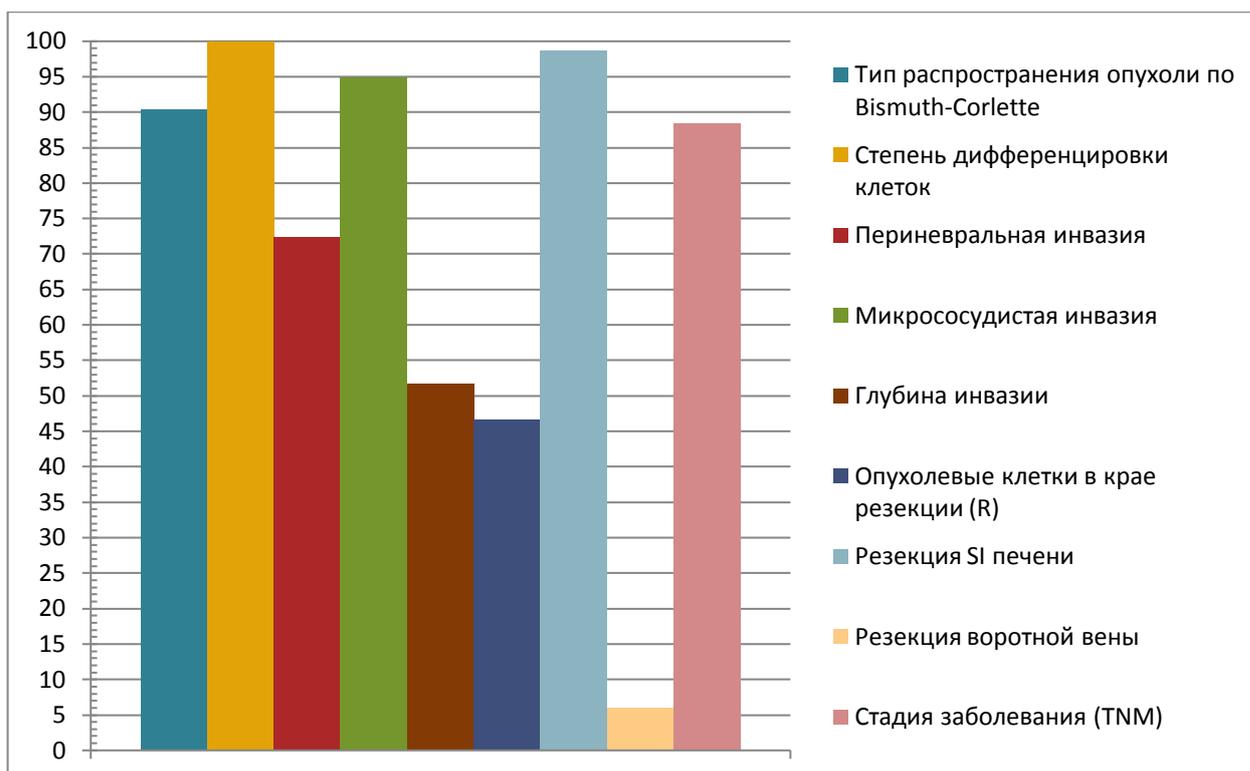


Рисунок 3.5. Многофакторный регрессионный анализ модель Кокса (n = 36 пациентов).

Таким образом, 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 (низкодифференцированная аденокарцинома является фактором неблагоприятного прогноза течения заболевания) ($p = 0,0011$).

3.2. 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. Для этого оперированные больные были разделены на 2 группы: в первую группу включено 16 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 отсутствии резекции хвостатой доли печени у 20 больных радикальность операции R0 и R1/R2 достигнута в равном количестве случаев по 10 (27,78%) больных, соответственно.

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) (рисунок 3.6), при этом статистически достоверной зависимости продолжительности жизни от расширения объема оперативного вмешательства обнаружено не было, что вероятнее всего связано с небольшим количеством наблюдений ($p=0,327$). Однако полифакторный анализ показал, что проведение сегментэктомии S1 печени в комплексе с другими клинико-морфологическими факторами статистически достоверно влияет на общую выживаемость ($p=0,0137$).

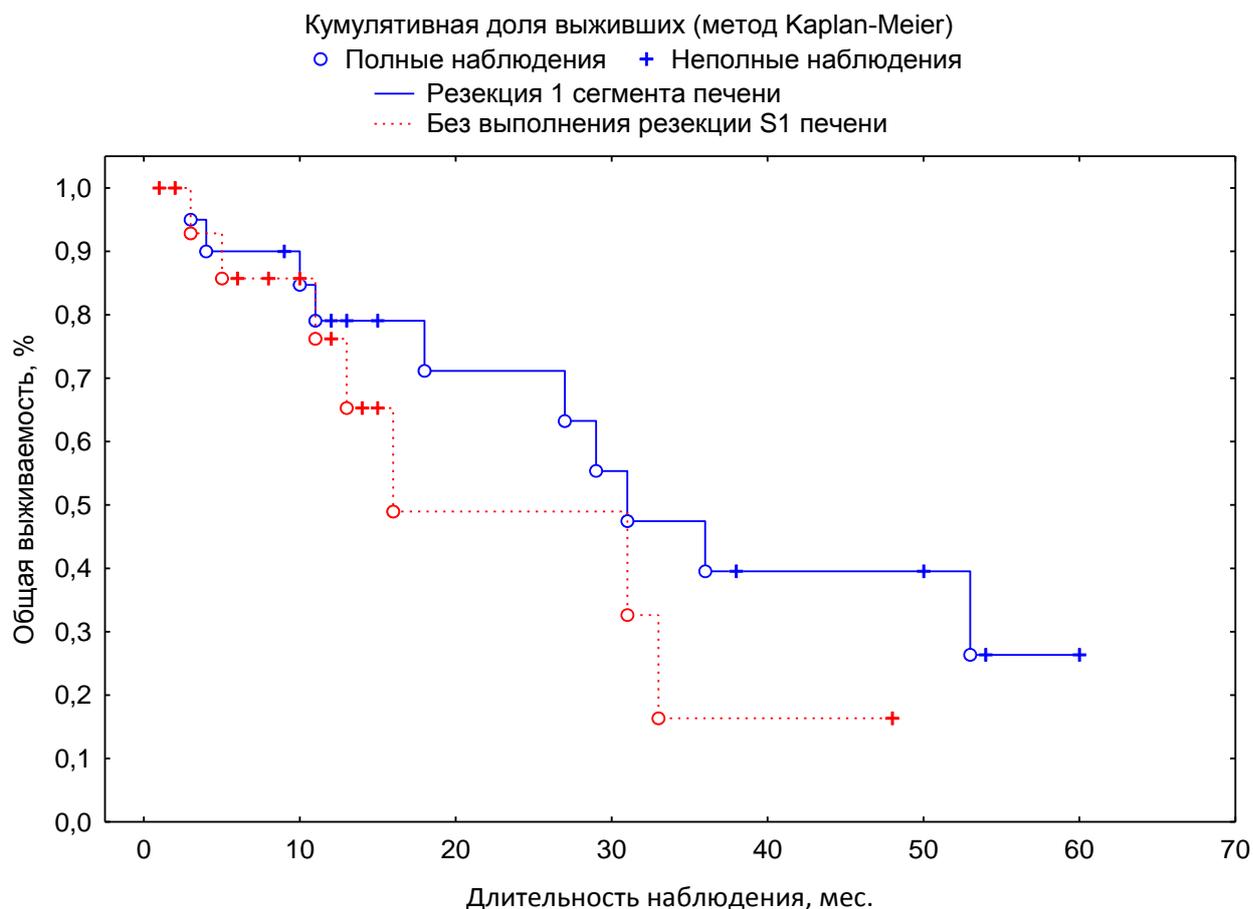


Рисунок 3.6. Зависимость общей выживаемости от дополнения гемигепатэктомии резекцией S1 сегмента печени ($p = 0,327$).

При проведении моно- и полифакторного анализа зависимости различных клиничко-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. Тем не менее, данное обстоятельство не может свидетельствовать о неоднородности указанных групп, поскольку, во-первых, число полных и неполных наблюдений могло также повлиять на прогностическую значимость исследуемых факторов, во-вторых, оценка опухолевого процесса зависит не только от местного распространения, но и от генерализации опухолевого процесса в различные органы и окружающие ткани посредством периневральной и микрососудистой инвазии.

Несмотря на то, что в нашем исследовании преобладали пациенты с I-IIIa (20 (55,6%) больных) стадией заболевания, общая 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 опухоли (молекулярных факторов).

При резекции R0 1-, 3- и 5-летняя продолжительность жизни 92,3%, 46,1%, 34,6% соответственно. Во время операции, когда было невозможным достичь края резекции R0, резекцию считали условно-радикальной (R1) и циторедуктивной (R2). У 21 больного, которому была выполнена R1 и R2 резекция, 5-летней продолжительности жизни не достиг ни один больной, максимальная таковая составила 38 мес. При этом 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).

Таким образом, общая 5-летняя выживаемость у наших пациентов составила 21,1%, что соответствует данным литературы. В то время как при резекции R0 общая 5-летняя выживаемость составляет 34,6%, стадия заболевания не определяет прогноз заболевания, а лишь указывает на подходы в выборе возможного варианта хирургического лечения.

ГЛАВА 4. ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПРОГНОЗ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

4.1 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 (таблица 4.1).

Таблица 4.1. 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	CK7	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

Из таблицы видно, наиболее часто встречалась умереннодифференцированная аденокарцинома билиарного типа, однако взаимосвязи между молекулярными факторами опухоли и статистически значимым клинко-морфологическим фактором (степень дифференцировки клеток) выявлено не было. Уровень экспрессии опухолевых маркеров определяет тип клеток аденокарциномы, что в свою очередь позволяет оценивать потенциал опухолевой прогрессии. В зависимости от экспрессии Muc 1, 2, 5AC и 6, CK7, CK20 выделяют следующие типы аденокарциномы: интестинальный,

фовеолярный, онкоцитарный и билиарный типы. Высокая степень экспрессии N-cadherin в цитоплазме клеток опухоли 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 воротной холангиокарциномой. Высокий индекс Ki 67 также свидетельствует о инвазивном потенциале и способности опухолевых клеток к метастазированию и местному рецидиву опухоли.

Далее анализирована (критерий корреляции Спирмена) корреляция уровня экспрессии указанных маркеров с общей выживаемостью. Результаты исследования представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2. Экспрессия СК7, СК20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6 у больных воротной холангиокарциномой

Маркеры опухоли (n=10)	Интенсивность экспрессии, n	Корреляция с послеоперационной выживаемостью	Уровень достоверности, p
СК 20		-0,03	0,934
Экспрессия отсутствует	8		
Слабая (+)	0		
Умеренная (++)	1		
Выраженная (+++)	1		
СК7		-0,4	0,249
Экспрессия отсутствует	3		
Слабая (+)	0		
Умеренная (++)	2		
Выраженная (+++)	5		
Muc 1		-0,016	0,963
Слабая (+)	2		
Умеренная (++)	3		
Выраженная (+++)			
Muc 2		-	-
Экспрессия отсутствует	10		
Muc 5AC		0,356	0,312
Экспрессия отсутствует	0		
Слабая (+)	0		
Умеренная (++)	4		
Выраженная (+++)	6		
Muc 6		0,073	-
Экспрессия отсутствует	7		
Слабая (+)	2		
Умеренная (++)	1		
Выраженная (+++)	0		
N-cadherin		0,694	0,032*
Экспрессия отсутствует	2		
Слабая (+)	4		
Умеренная (++)	4		
Выраженная (+++)	0		
Ki 67 M, %		-0,223	0,535
≤30%	4		
>30%	6		

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, однако, посредством последних, возможна окончательная верификация типа клеток опухоли. Полученные результаты указывают на то, что высокий уровень мембранно-цитоплазматической экспрессии N-cadherin в клетках опухоли является неблагоприятным прогностическим фактором.

Корреляционная связь между Ki-67 и продолжительностью жизни - обратная, теснота (сила) связи – слабая, однако зависимость признаков статистически не значима ($p > 0,05$).

Экспрессия CK7, Muc 1, 5AC и 6, N-cadherin, Ki 67 показана на рисунке 4.1-4.6.

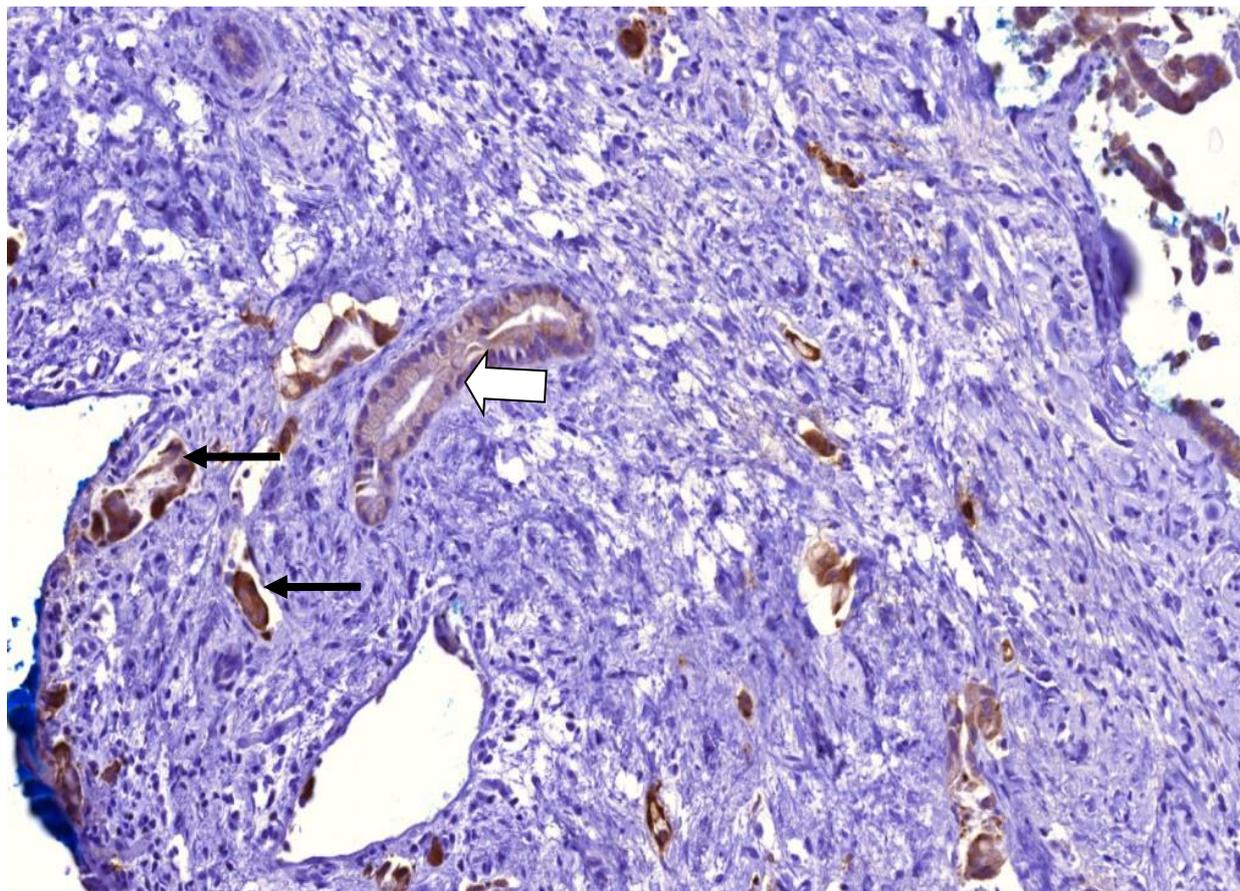


Рисунок 4.1. Микропрепарат больного М., 71 год (и/б 4087-2015). Иммуногистохимическая реакция. Клетки опухоли (\rightarrow) обнаруживают выраженную мембранно-цитоплазматическую экспрессию MUC1 (клон MRQ-17, Cell Marque) в клетках умереннодифференцированной аденокарциномы билиарного типа. Сравнение с неизменными протоковыми структурами (\Rightarrow). Иммунопероксидазный метод. DAB, гематоксилин Майера. Увеличение $\times 200$.

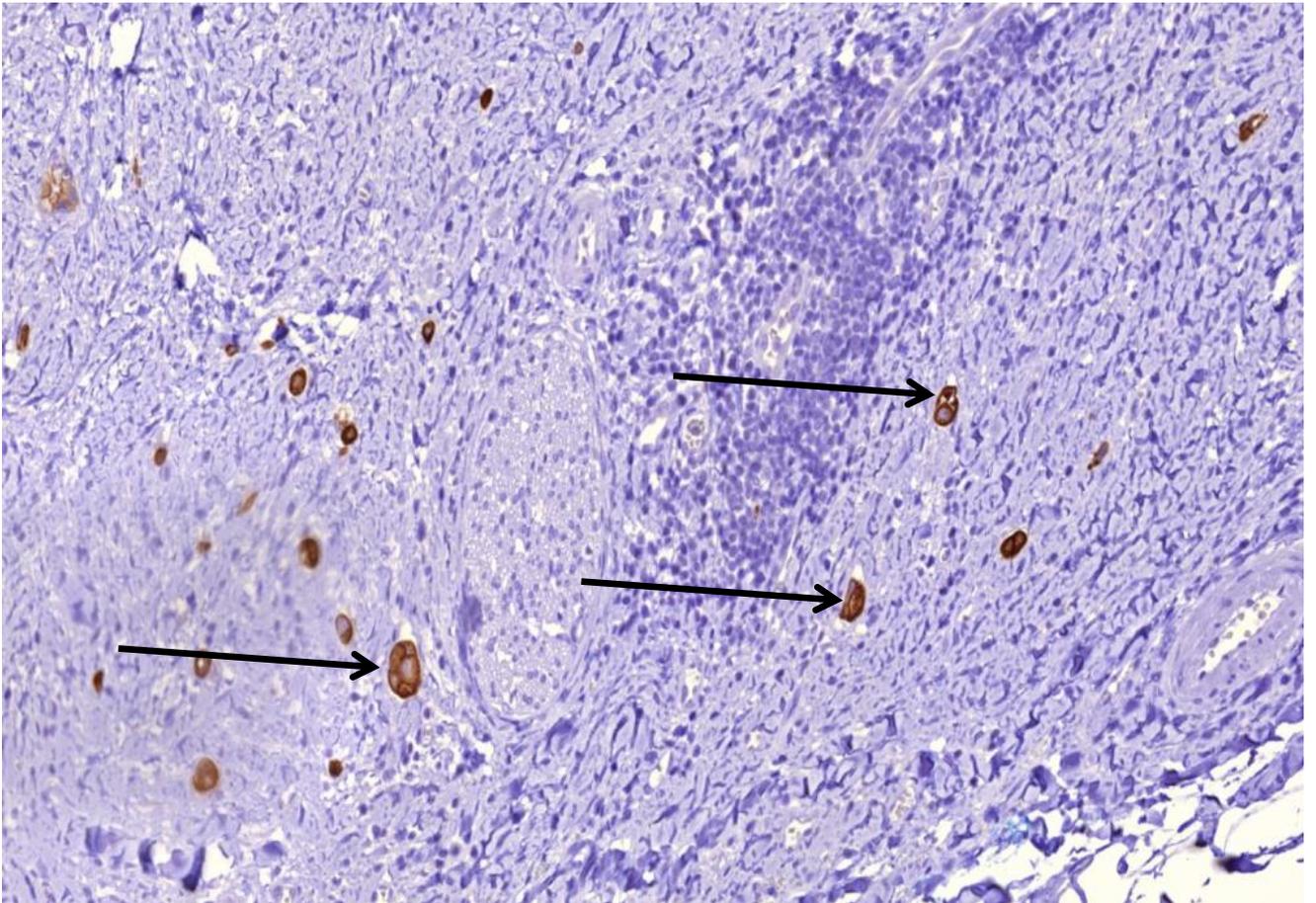


Рисунок 4.2 Микропрепарат больного М., 71 год (и/б 4087-2015). Иммуногистохимическая реакция. Отдельные группы клеток опухоли (→), экспрессирующие Cytokeratin 7 (клон OV-TL 12/30, Cell Marque). Иммунопероксидазный метод. DAB, гематоксилин Майера. Увеличение x200.

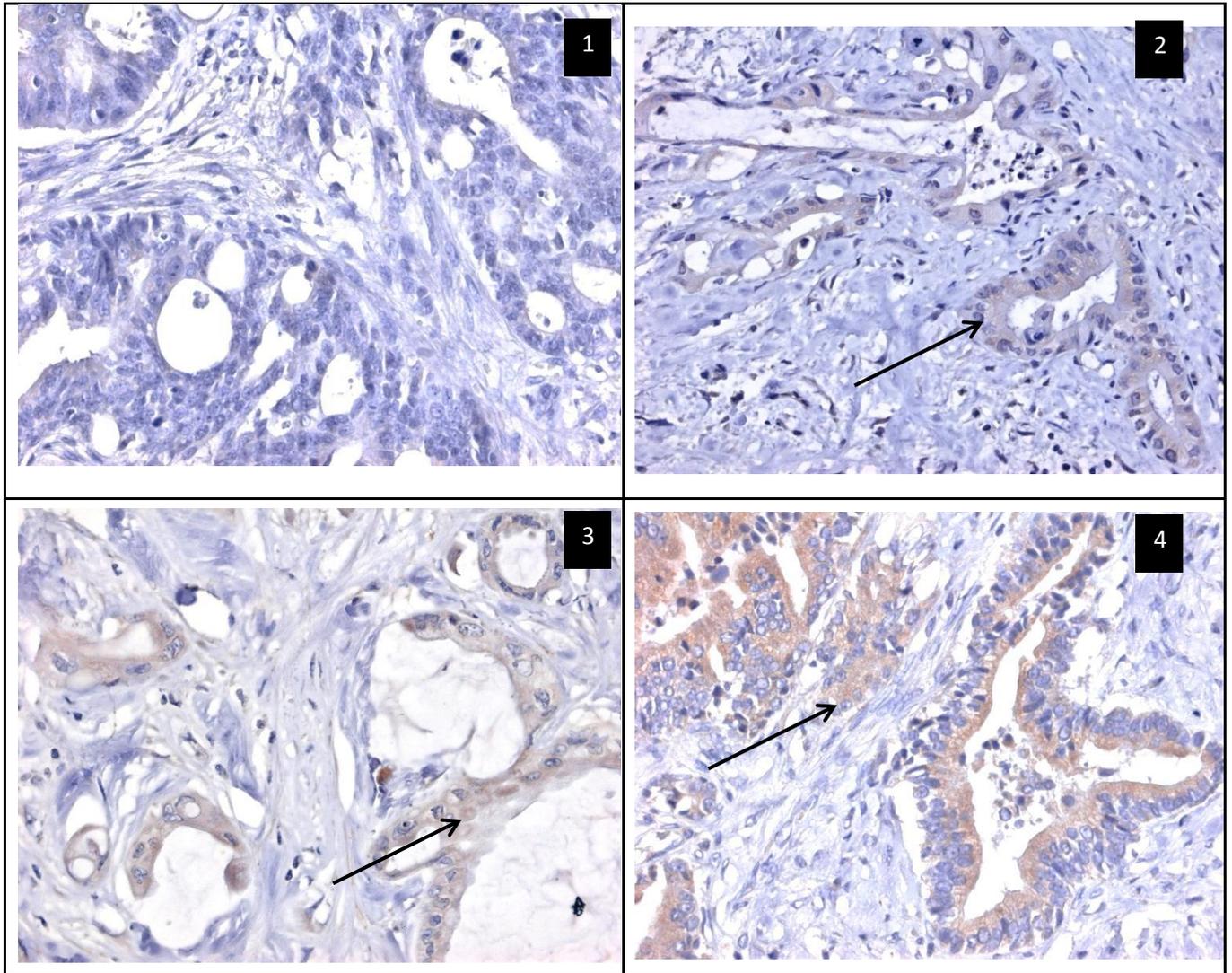


Рисунок 4.3. Различия в выраженности экспрессии N-Cadherin. Иммуногистохимическое исследование. Иммунопероксидазный метод. ДАБ, гематоксилин. 1 - отсутствие экспрессии N-Cadherin клетками опухоли (микропрепарат больная К., 63 года (и/б 192-2012)). 2 – слабо выраженная (+) мембранно-цитоплазматическая экспрессия N-Cadherin клетками опухоли (→) (микропрепарат больной Г., 48 лет (и/б 3410-2011)). 3,4 – умеренно выраженная (++) мембранно-цитоплазматическая экспрессия N-Cadherin клетками опухоли (→) (3 - микропрепарат больная С., 61 год (и/б 3428-2011); 4 - микропрепарат больной К., 48 лет (и/б 391-2014)). Увеличение x 400.

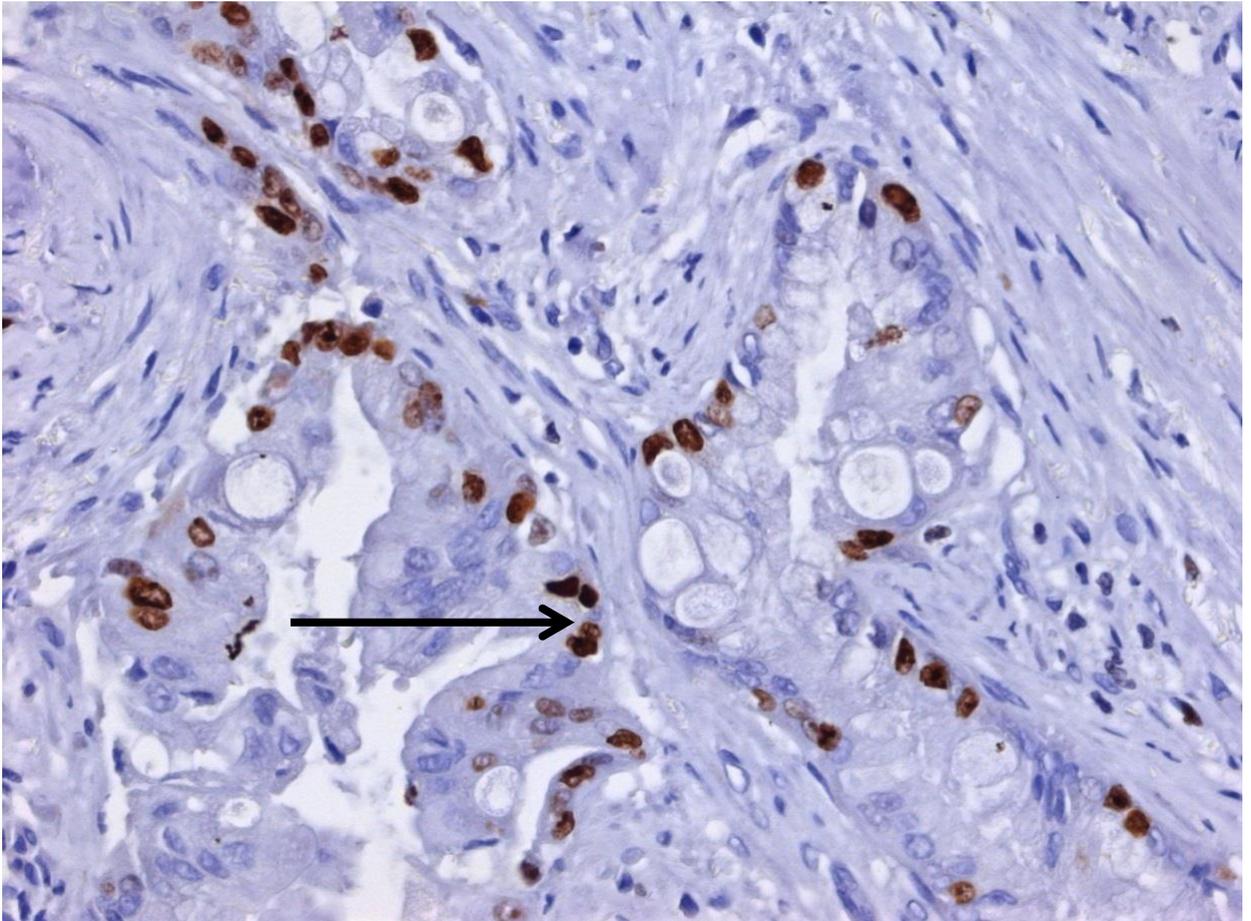


Рисунок 4.4. Микропрепарат больной Б., 57 лет, и/б 164-2012. Билиарный тип опухоли Клатскина. Иммуногистохимическое исследование. Иммунопероксидазный метод. ДАБ, гематоксилин. Индекс Ki-67 (клон MIB-1, ДАКО) - 30% (окрашены в коричневый цвет, →). Увеличение x400.

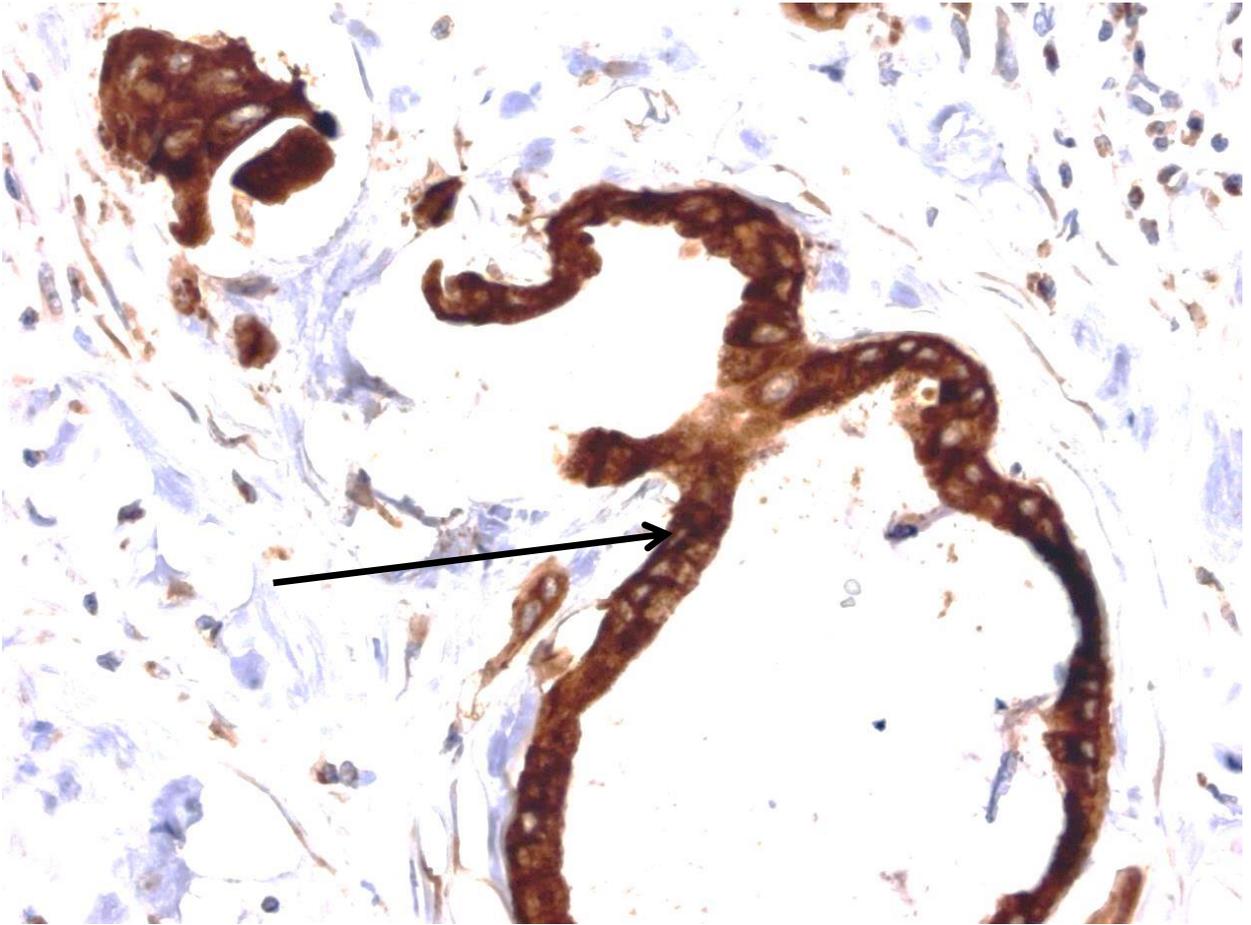


Рисунок 4.5. Микропрепарат больная С., 61 год, и/б 3428-2011. Онкоцитарный/билиарный тип опухоли Клатскина. Иммуногистохимическое исследование. Иммунопероксидазный метод. ДАБ, гематоксилин. Выраженная (+++) мембранно-цитоплазматическая экспрессия MUC5AC (клон MRQ-19, Cell Marque) клетками опухоли (окрашены в коричневый цвет, (→)). Увеличение x400.

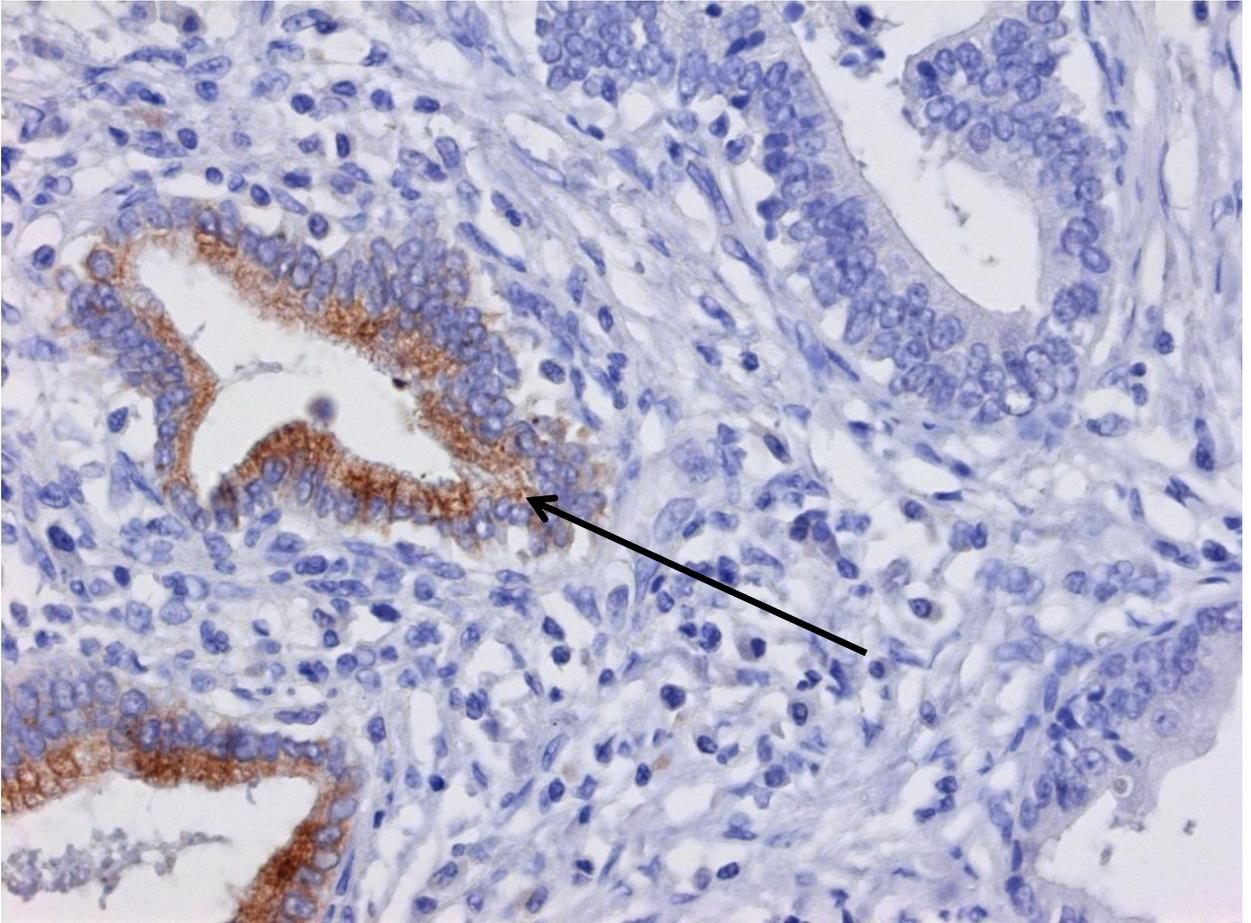


Рисунок 4.6. Микропрепарат больной К., 48 лет, и/б 391-2014. Билиарный тип опухоли Клатскина. Иммуногистохимическое исследование. Иммунопероксидазный метод. ДАБ, гематоксилин. Слабо выраженная (+) цитоплазматическая экспрессия MUC6 (клон MRQ-20, Cell Marque) клетками опухоли (окрашены в коричневый цвет, (→)). Увеличение x400.

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 воротной холангиокарциномы определяет комплекс клинико-морфологических и молекулярных факторов опухоли. Проведенное иммуногистохимическое исследование подтверждает, что степень выраженности ЭМП имеет большое значение в развитии опухолевой прогрессии и течении заболевания, и соответственно, может использоваться в качестве маркера прогноза заболевания и характеристики «биологического» потенциала опухоли.

4.2 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 опухоли проксимальных желчных протоков.

На первом этапе все показатели были разделены на 2 группы, молекулярные факторы интегрированы в основную шкалу не были ввиду малой выборки (n=10). К первой группе были отнесены показатели, отражающие клинические характеристики опухоли: стадия заболевания (TNM), резекция S1 печени и воротной вены, тип распространения по Bismuth-Corlette. Ко второй группе отнесены морфологические факторы опухоли: степень дифференцировки клеток, периневральная инвазия, микрососудистая инвазия, глубина инвазии опухоли в окружающие ткани, опухолевые клетки в крае резекции (R).

В результате проведения статистических исследований (монофакторный регрессионный анализ Кокса) выявлено, что минимальным и достаточным комплексом показателей, позволяющим адекватно определить прогноз течения заболевания после операции, является стадия заболевания (TNM), степень дифференцировки клеток опухоли, периневральная инвазия, микрососудистая инвазия, опухолевые клетки в крае резекции, т.к. именно с их помощью возможно установить стадию и степень распространенности воротной холангиокарциномы, а также определить адекватность проведенного хирургического вмешательства.

Кроме того, для наибольшей точности метода нами был использован мультимодальный подход, для чего оценка факторов производилась комплексно.

Полученным значениям присваиваются балльные оценки (таблица 4.3).

Таблица 4.3. 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 таблице 4.3.

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 опухолями проксимальных внепеченочных желчных протоков 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:

- P от 0 до 70% (вариант 1) – вероятна выживаемость более 2 лет;
- P от 71% до 80% (вариант 2) – вероятна выживаемость 1-2 года включительно;
- P 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.

Таким образом, на первом этапе на основании изучения клинико-морфологических 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 таблице 4.2, а именно чем более выражена экспрессия N-cadherin, тем хуже прогноз течения заболевания.

После комплексного анализа клинико-морфологических и молекулярных факторов на завершающем этапе проводится моделирование полученных результатов.

Результаты балльной оценки клинико-морфологических факторов опухоли в комплексе с молекулярными факторами (иммуногистохимический анализ проведен у 10 больных) приведены в таблице 4.4.

Таблица 4.4. Определение прогноза по количеству баллов клинико-морфологических факторов и степени экспрессии N-cadherin

Индивидуальная область прогноза	Значения области прогноза, %	Степень экспрессии N-cadherin	Прогнозируемая послеоперационная выживаемость	Фактическая продолжительность жизни
1. - 42,86% 4. - 42,86% 5. - 64,28% 6. - 64,28% 10. - 42,86%	От 0 до 70%	1. - - + 4. - - + 5. - - + 6. - - ++ 10. - 0	более 24 мес. (хороший прогноз).	1. - 53 мес. 4. - 57 мес.* 5. - 35 мес. 6. - 52 мес. 10. - 10 мес.* (рецидива нет)
3. - 71,42% 8. - 78,57% 9. - 78,57%	От 71% до 80%	3. - + 8. - ++ 9. - ++	от 12 месяцев до 23,9 мес. после оперативного вмешательства (умеренный прогноз)	3. - 13 мес. 8. - 27 мес. 9. - 15 мес.
2. - 85,7% 7. - 85,71%	От 81% и более	2. - ++ 7. - 0	менее 12 месяцев после оперативного вмешательства (плохой прогноз)	2. - 11 мес. 7. - 10 мес.

Примечание: *- пациенты, находящиеся на амбулаторном наблюдении; «1.,2.,3... 10.» - № обследованного пациента.

Из таблицы 4.4 следует, что рассчитанный 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 у каждого пациента с точностью до 90%, однако полученные результаты требуют дальнейшего изучения в связи с малым числом наблюдений.

4.3 Клинические примеры прогнозирования выживаемости больных воротной холангиокарциномой

Иллюстрация следующими примерами:

Пример 1.

Больная К. (и.б. 192-2012), 64 лет, клинический диагноз: Рак внепеченочных желчных протоков, тип IIIa по Bismuth-Corlette, T2N0M0.

Анамнез заболевания: больна с 11.XII.2011 г., когда отметила появление кожного зуда, потемнение мочи, гипертермию до 38С. Спустя сутки пациентка отметила пожелтение кожного покрова и склер, осветление кала. В связи, с чем пациентка была госпитализирована по месту жительства, где при обследовании (МРТ, МРХПГ) выявлена опухоль проксимальных внепеченочных протоков. 16.XII.2011 г. выполнено ЭРХПГ, стентирование гепатокохоледоха пластиковым стентом 8,5 Fr. После проведения консервативной терапии, стабилизации состояния больная направлена в Институт хирургии для дообследования и оперативного лечения.

По данным инструментальных методов диагностики в ФГБУ «Институт хирургии имени А.В.Вишневского» Минздрава России пациентке поставлен диагноз: Опухоль Клатскина, тип IIIa по Bismuth-Corlette. T2NxM0. Механическая желтуха, хронический рецидивирующий холангит (рисунок 4.7 а,б).

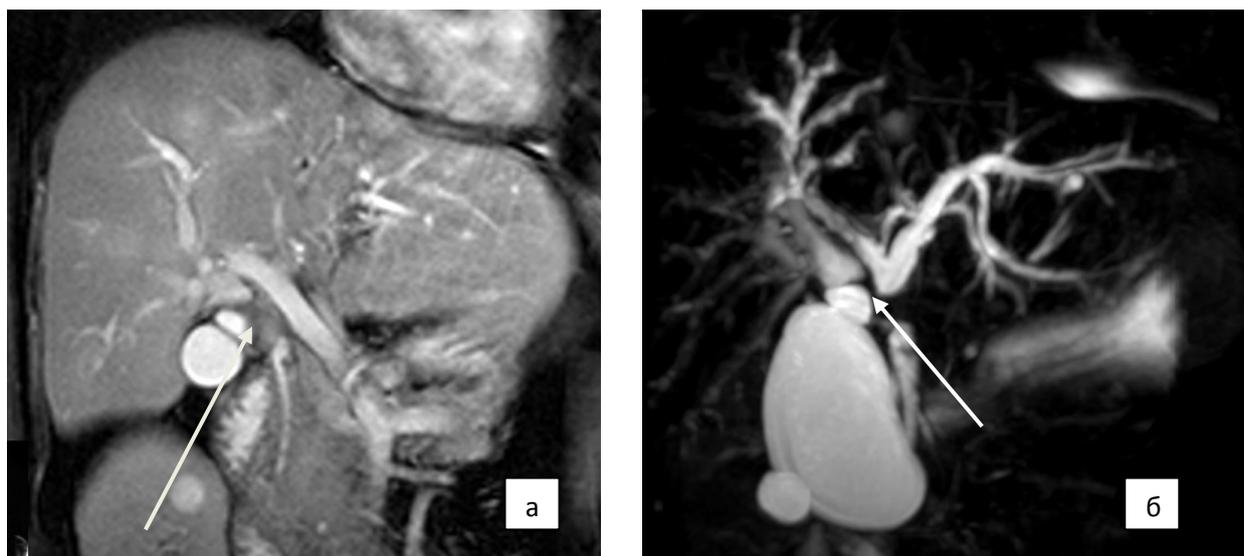


Рисунок 4.7 (а, б). МРТ (а), МРХПГ(б). Картина билиарной гипертензии внутрипеченочных желчных протоков с блоком (указан стрелкой) на уровне общего печеночного протока опухолевого генеза, распространяющийся на правый долевой проток (опухоль Клатскина, тип IIIa), калькулезный холецистит.

31.I.2012 г. проведена операция: правосторонняя гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков, холецистэктомия, лимфодиссекция гепатодуоденальной связки, формирование гепатикоеюноанастомоза (Рисунок 4.8-4.10).

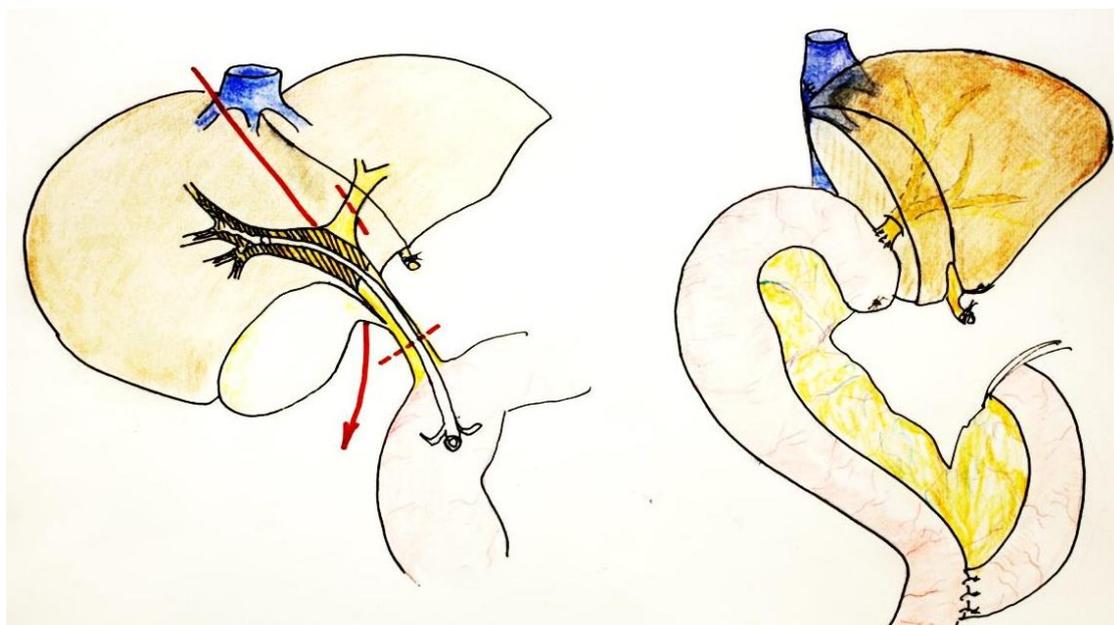


Рисунок 4.8. Схема операции. ПГГЭ, резекция внепеченочных желчных протоков, формирование билиодигестивного анастомоза.

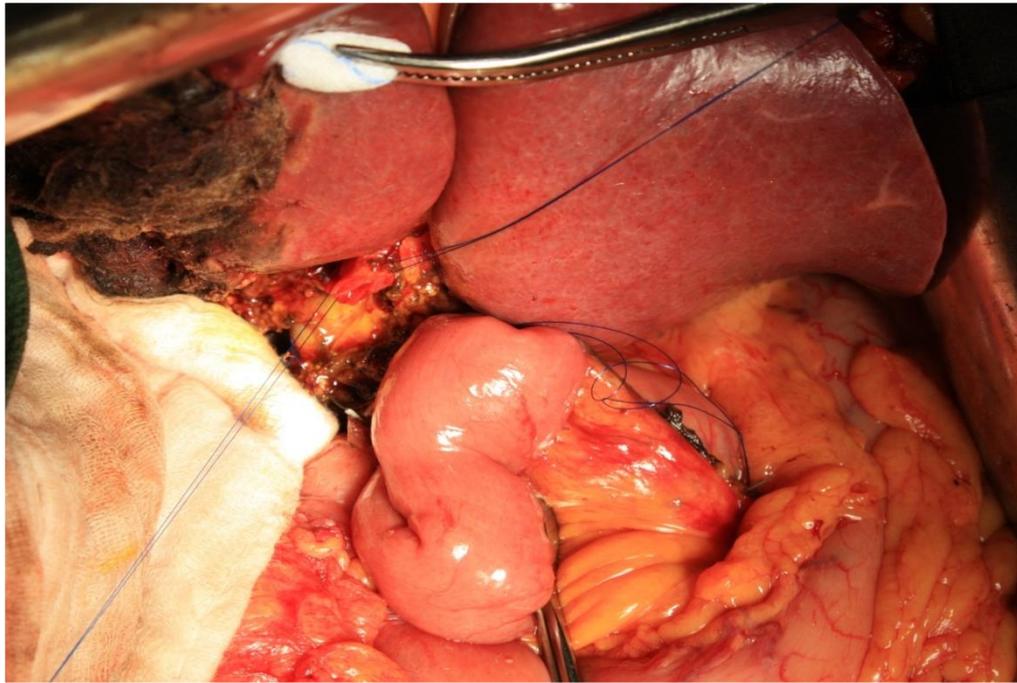


Рисунок 4.9. Интраоперационная фотография. Выполнена правосторонняя гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков.

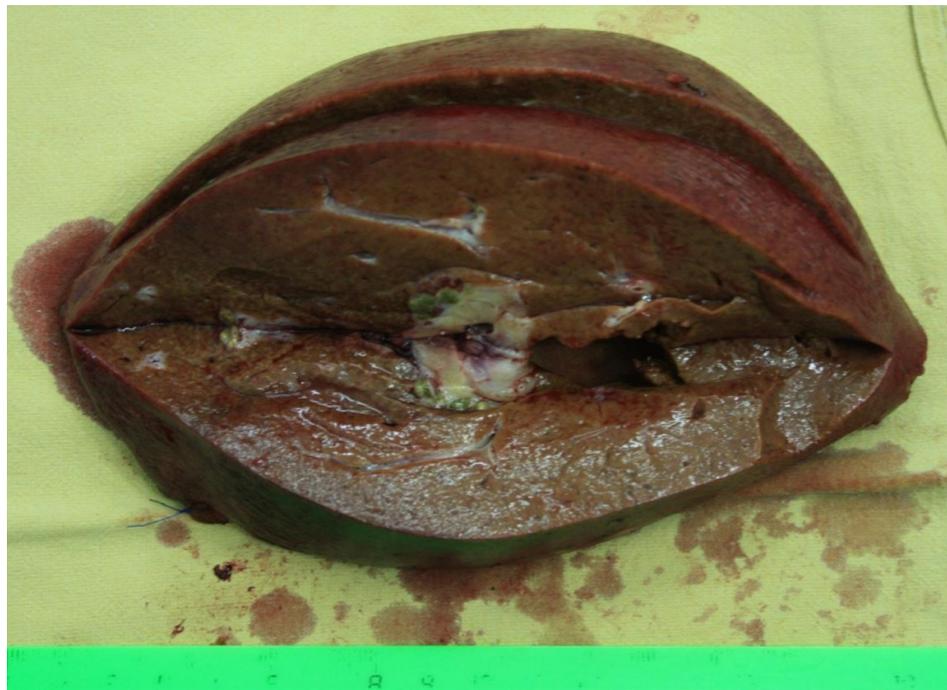


Рисунок 4.10. Макропрепарат больной К., 64 лет (и/б 192-2012). В области ворот, вокруг печеночных протоков, определяются разрастания плотной, беловато-желтой ткани, стенка протока утолщена до 0,5 см. (№№ 841-845/2012).

При гистологическом исследовании (№841 - 854/ 12) выявлено: низко дифференцированная аденокарцинома (кишечный тип) внепеченочных желчных протоков с продолженным ростом в ткань печени, участками инвазии сосудистых щелей и периневральных пространств, в 2 лимфатических узлах ворот печени опухолевых клеток не выявлено. В горизонтальном крае резекции области конfluence - элементы опухоли (R2). pT2b pN0 (0\5) cM0; grade 3; R2, Pn1, V1 (таблица 4.5).

Таблица 4.5. Балльная оценка факторов риска.

Фактор риска	Балльная оценка
Стадия TNM (I-IV)	1
Тип распространения опухоли по печеночным протокам по Bismuth-Corlette	2
Степень дифференцировки клеток опухоли	3
Микрососудистая инвазия	2
Периневральная инвазия	2
Радикальность операции (R)	2

Расчет вероятности прогноза: $P = (1+2+3+2+2+2)/14 \times 100\% = 85,71\%$, что соответствует варианту 3 (менее 12 мес., «плохой» прогноз) для ожидаемой выживаемости пациента.

Результаты иммуногистохимического исследования отражены на рисунке 4.11:

- 1 - отсутствие экспрессии CK7 (клон OV-TL 12/30, Cell Marque) клетками опухоли.
- 2 – выраженная мембранная экспрессия CK20 (клон Ks20.8, Cell Marque) клетками опухоли.

3 – выраженная ядерная экспрессия CDX2 (клон EPR2764Y, Cell Marque) клетками опухоли.

4 - индекс Ki67 (клон MIB-1, DAKO) - 60%.

Уровень экспрессии N-cadherin составил «0» (отсутствует), индекс пролиферации Ki-67 - 60%, что расценено как «высокая» агрессивность опухоли. Пациентка умерла через 10 месяцев после проведения операции в связи с рецидивом заболевания: местный рецидив, метастатическое поражение печени.

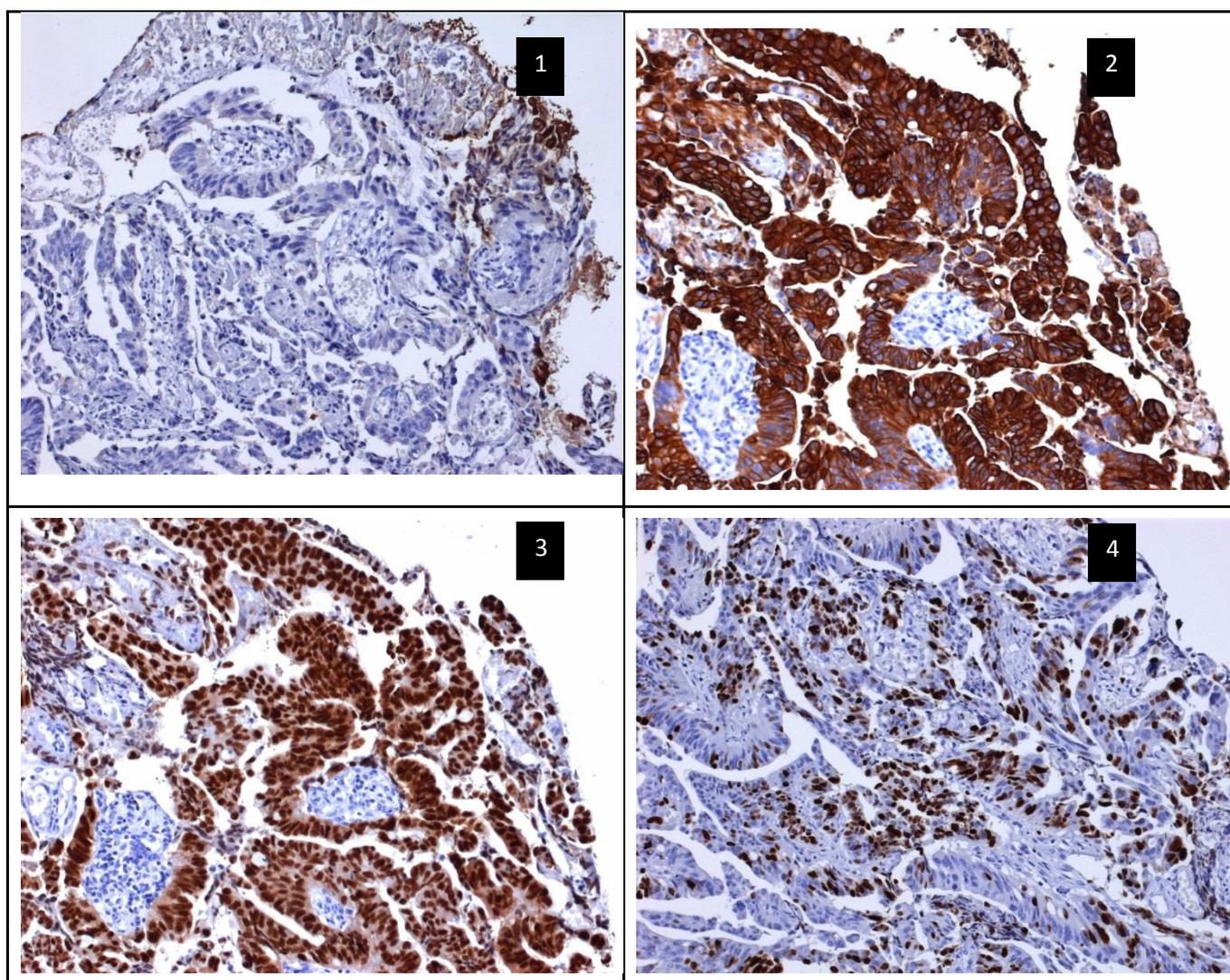


Рисунок 4.11. Иммуногистохимическое исследование, больная К. (и.б.№192-2016). Кишечный тип опухоли Клатскина. Иммунопероксидазный метод. ДАБ, гематоксилин. Увеличение x 200 (описание в тексте).

Пример 2.

Больной Г. (и.б. 3410-2011), 49 лет, клинический диагноз: Опухоль Клатскина, тип IV по Bismuth-Corlette, cT4N0M0. Хронический рецидивирующий холангит. Множественные холангиогенные абсцессы печени.

Анамнез заболевания: болен с VIII.2011 г., когда появилась желтушность кожных покровов и склер, потемнение мочи. Пациенту по месту жительства выполнено билобарное чрескожное чреспеченочное дренирование желчных протоков. В течение 2 месяцев наблюдался в онкологическом диспансере, за время наблюдения пациенту 4 раза проводилась коррекция транспеченочных дренажей. XI.2011 г. направлен в Институт хирургии имени А.В.Вишневского для дообследования и оперативного лечения.

Данные инструментального обследования (МСКТ брюшной полости, УЗИ брюшной полости): вокруг дренажей в воротах печени выявляется утолщение стенок долевых (правого на протяжении 1 см, левого 0,5 см от конfluence) и общего печеночного протоков. Контрастирование паренхимы печени неоднородное за счет перераспределения кровоснабжения, также в сегменте 4 клиновидной формы участок сниженного накопления КВ, визуализируемый только в портальную фазу (зона нарушения кровоснабжения после попытки установления дренажа?). Также в сегменте 4 округлой формы гиподенсные участки, наиболее крупный диаметром до 13 мм, с нечеткими контурами, отстающий в накоплении КВ, в его центре расширенный желчный проток (рисунок 4.12)

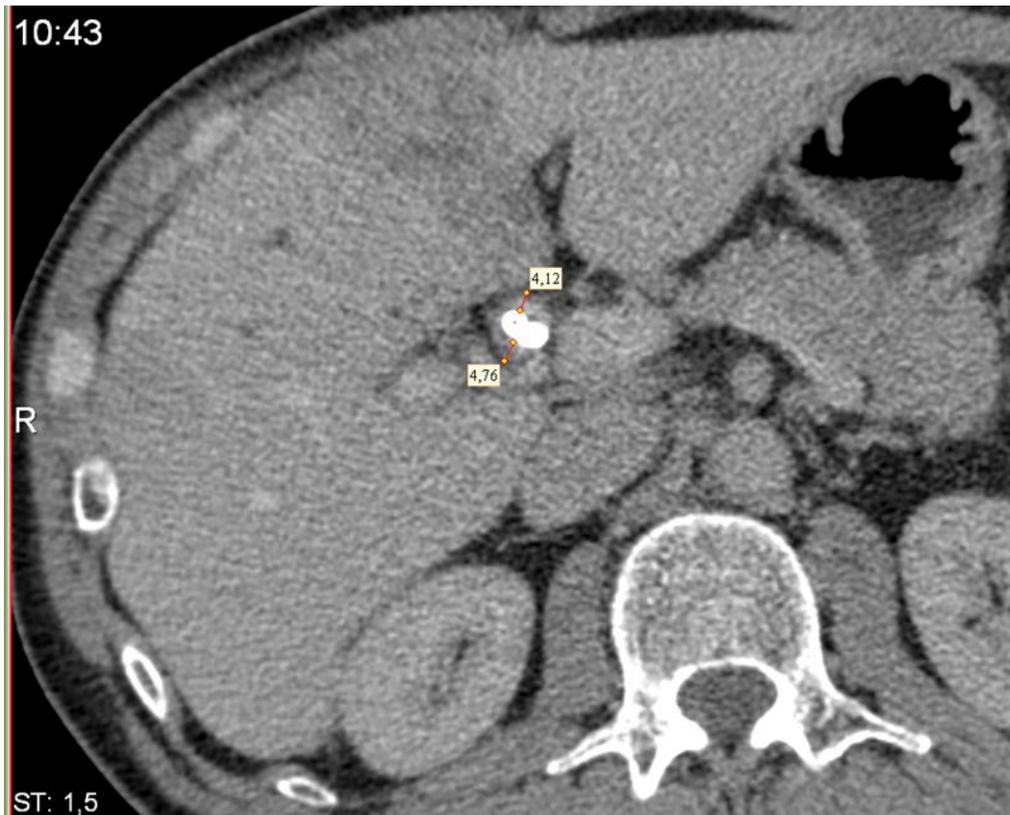


Рисунок 4.12. МСКТ. В воротах печени выявляется утолщение стенок долевых и общего печеночного протоков.

После предоперационной подготовки и дообследования 09.XII.2011 г. проведена операция: левосторонняя гемигепатэктомия с резекцией S1 печени и внепеченочных желчных протоков, холецистэктомия, краевая резекция бифуркации воротной вены, формирование тетрагепатикоеюноанастомоза на отключенной по Roux петле тонкой кишки.

Данные гистологического исследования (№№ 12596-623/11): в ткани печени диспластические изменения крупных желчных протоков BillN-L-N с явлениями хронического холангита, холестаза, дистрофии и атрофии гепатоцитов, на отдельных участках с признаками инвазивного роста. Опухолевые клетки в ткани печени образуют псевдожелезистые структуры, окруженные фиброзной стромой с участками лимфо-гистиоцитарной и нейтрофильной инфильтрации. В толще стенки желчного протока разрастания комплексов умеренно дифференцированной аденокарциномы протокового типа с фокусами периневральной инвазии. В стенке воротной вены клетки аденокарциномы

вышеописанного строения. В 5 лимфатических узлах ворот печени опухолевых клеток не выявлено. В крае резекции правого долевого протока – клетки опухоли (R1). Заключение: Умеренно дифференцированная аденокарцинома внутри- и внепеченочных желчных протоков, pT4 pN (0/5) cM0; grade 2; R1, Pn1, V1 (таблица 4.6).

Таблица 4.6. Балльная оценка факторов риска

Фактор риска	Балльная оценка
Стадия TNM (I-IV)	2
Тип распространения опухоли по печеночным протокам по Bismuth-Corlette	3
Степень дифференцировки клеток опухоли	2
Микрососудистая инвазия	2
Периневральная инвазия	2
Радикальность операции (R)	1

Расчет вероятности прогноза: $P = (2+3+2+2+2+1)/14 \times 100\% = 85,71\%$, что соответствует варианту 3 (менее 12 мес., «плохой» прогноз) для ожидаемой выживаемости пациента.

Результаты иммуногистохимического исследования отражены на рисунках 4.3 и 4.13:

1 - выраженная мембранная экспрессия CK7 (клон OV-TL 12/30, Cell Marque) клетками опухоли.

2 – отсутствие экспрессии CK20 (клон Ks20.8, Cell Marque) клетками опухоли.

3 – отсутствие экспрессии CDX2 (клон EPR2764Y, Cell Marque клетками опухоли).

4 - индекс Ki67 (клон MIB-1, DAKO) - 20%.

Уровень экспрессии N-cadherin составил «+» (слабо выраженная), индекс пролиферации Ki-67 - 20%, что расценено как «умеренная» агрессивность

опухоли. Пациент умер через 11 месяцев после проведения операции в связи с рецидивом заболевания: метастатическое поражение печени, канцероматоз брюшины.

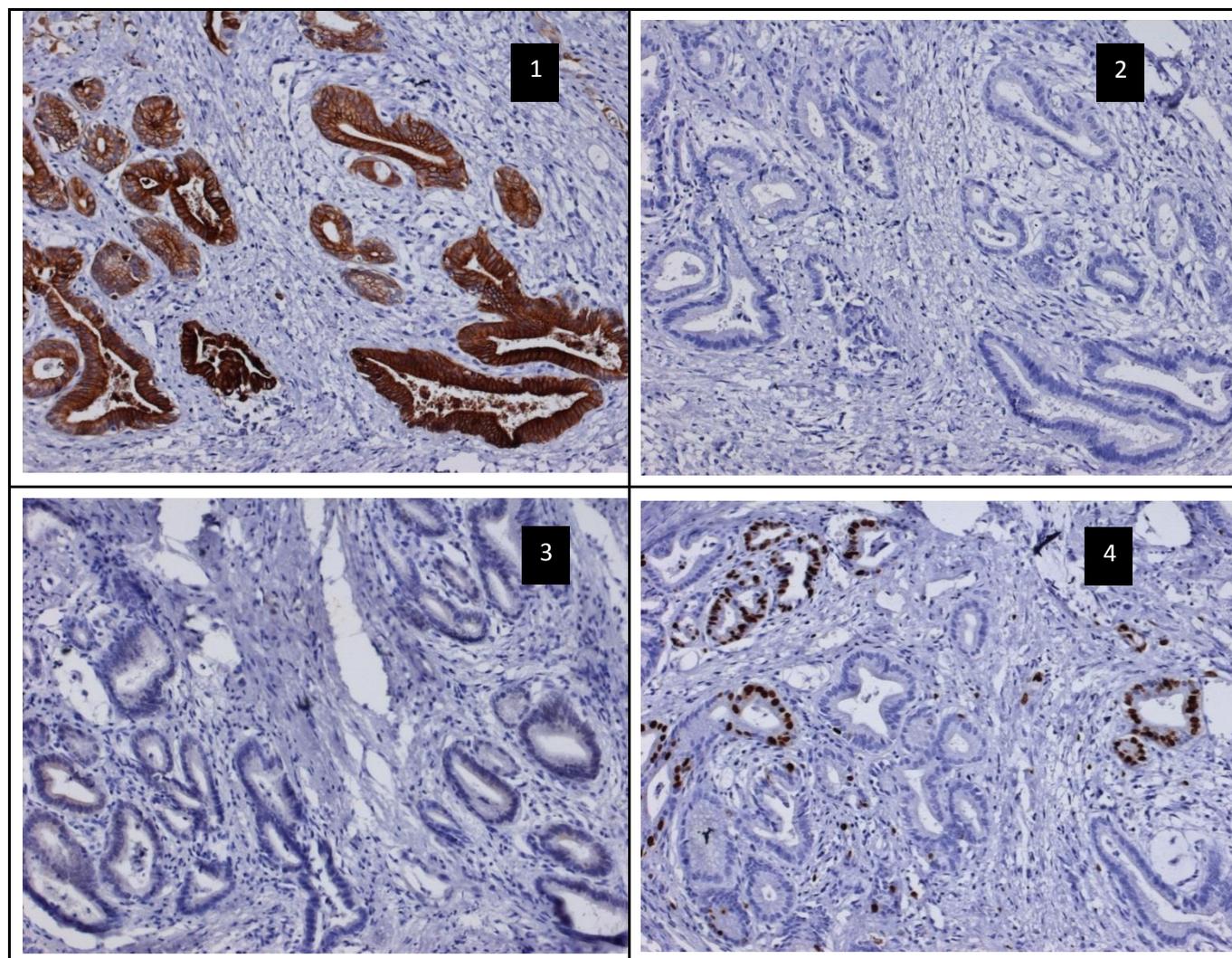


Рисунок 4.13. Больной Г. (и.б. 3410-2011). Билиарный тип опухоли Клатскина. Иммуногистохимическое исследование. Иммунопероксидазный метод. ДАБ, гематоксилин. Увеличение x200.

Пример 3.

Больной К. (и.б. 31-2013), 64 лет, клинический диагноз: Рак общего печеночного протока, T3N0M0 (опухоль Клатскина), тип IIIb по Bismuth-Corlette. Эмпиема желчного пузыря. Паравезикальный абсцесс.

Анамнез заболевания: болен с XI.2012 г., когда отметил пожелтение склер и кожных покровов, потемнение мочи. Пациент был госпитализирован в ЦРБ по

месту жительства, где при дообследовании выявлены признаки опухоли внепеченочных желчных протоков. 28.XI.12 г. выполнено стентирование холедоха, уровень билирубинемии снизился. I.2013 г. направлен в Институт хирургии имени А.В.Вишневского для дообследования и оперативного лечения.

Данные инструментального обследования (УЗИ, МСКТ брюшной полости, МРТ брюшной полости): асцита нет, умеренно выраженная вне- и внутripеченочная билиарная гипертензия с блоком на уровне ворот печени. Увеличение и диффузные изменения паренхимы печени. Регионарная лимфаденопатия. Паравезикальный абсцесс с инфильтрацией прилежащей паренхимы печени (S5 печени) (Рисунок 4.14 – 4.15а,б).



Рисунок 4.14. МРТ. Картина билиарной гипертензии внутripеченочных желчных протоков с блоком (указан стрелкой) на уровне общего печеночного протока опухолевого генеза, «застойный» желчный пузырь.

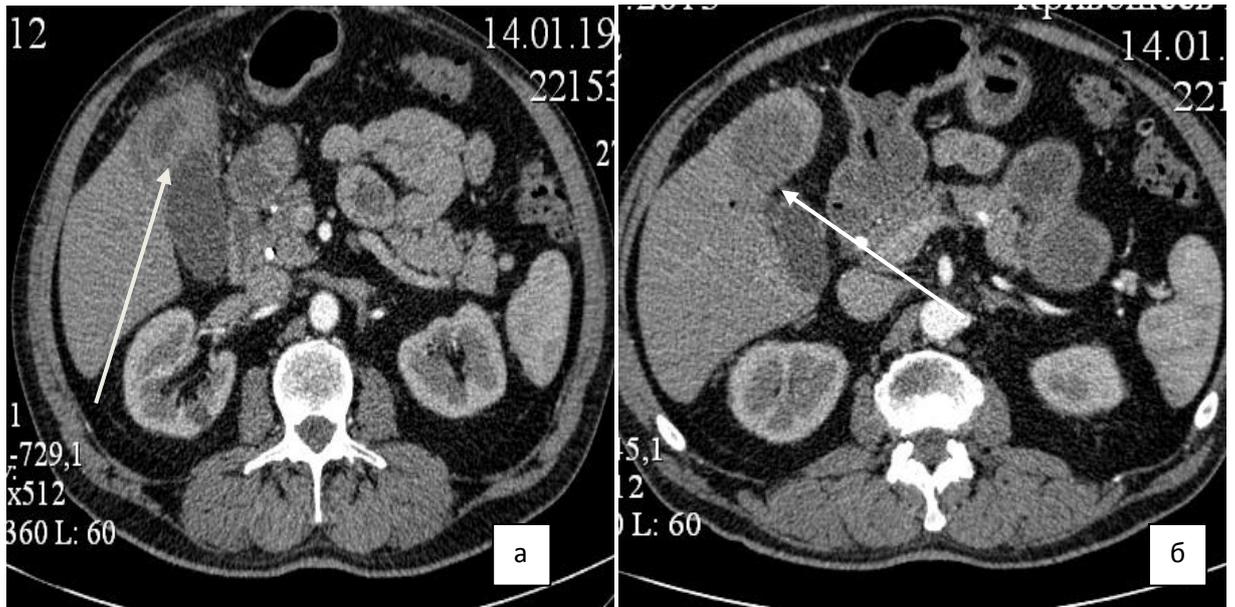


Рисунок 4.15 (а,б). МСКТ брюшной полости. КТ-картина паравезикального абсцесса с инфильтрацией прилежащей паренхимы S5 печени (указан стрелкой).

17.I.2013 выполнена пункционная санация перивезикального абсцесса под ультразвуковым контролем, получено гноеновидное отделяемое в объеме до 8,0 мл. Желчный пузырь с неоднородным содержимым, во время пункции не поврежден. Других скоплений не обнаружено.

После предоперационной подготовки 28.I.2013 проведена операция: левосторонняя гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков, холецистэктомия, формирование пентагепатикоюноанастомоза на отключенной по Roux петле тонкой кишки.

Интраоперационно: в области конfluence долевых протоков имеется плотный инфильтрат с распространением на левый долевой проток. Холедох выделен и резецирован выше области пальпируемой опухоли с конfluenceм и левым долевым протоком - на срочное гистологическое исследование. По данным срочного гистологического исследования (№567 - 568/ 13) - стенка желчных протоков с ростом аденокарциномы. Выполнена левосторонняя гемигепатэктомия. Выше пальпируемой опухоли пересечен правый долевой печеночный проток, при этом открылись сегментарные протоки 5-8 и 6-7

сегментов печени, а также проток 1 сегмента. Сформирован единый пентагепатикоеюноанастомоз (Рисунок 4.16-4.17).



Рисунок 4.16. Интраоперационная фотография. Выполнена левосторонняя гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков.

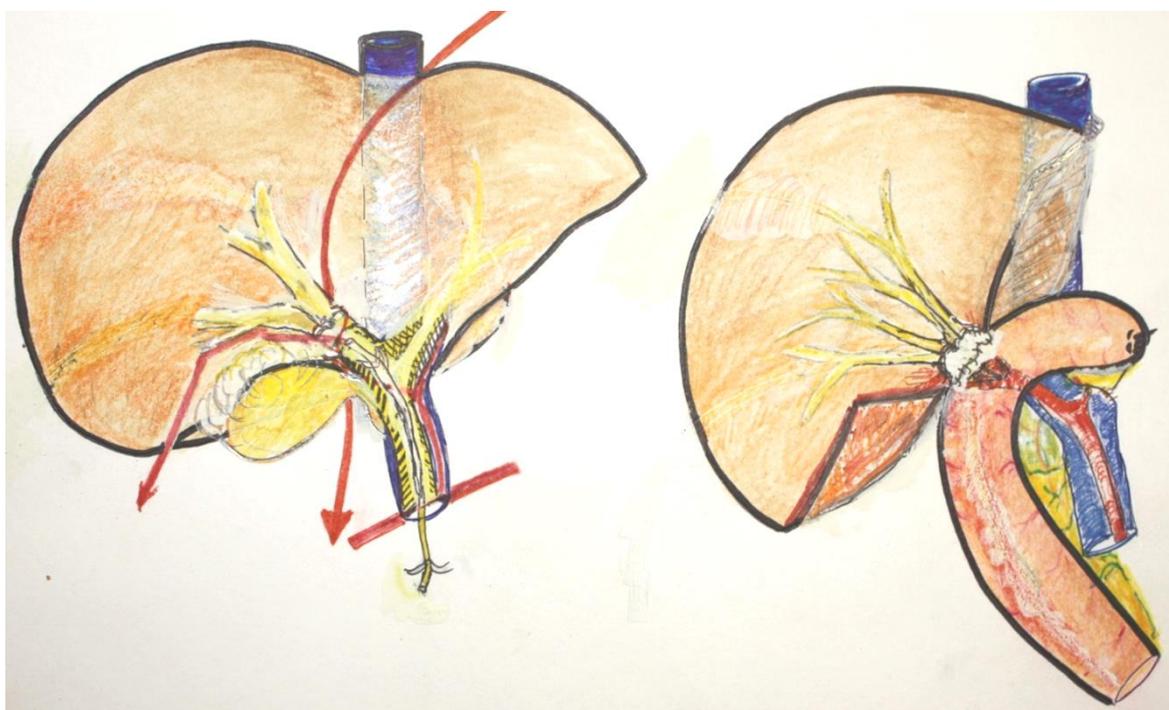


Рисунок 4.17. Схема операции. ЛГГЭ, резекция внепеченочных желчных протоков с холецистэктомией, формирование пентагепатикоеюноанастомоза.

Данные гистологического исследования (№№ 538-549/13, 567-574/13, 625-638/13): флегмонозный холецистит с участками атрофии слизистой и выраженным фиброзом стенки. Ткань печени в области ложа желчного пузыря с кровоизлияниями, фокусами полиморфноядерной воспалительной инфильтрации на фоне выраженных рубцовых изменений. Ткань печени с фиброзом и лимфогистиоцитарной инфильтрацией портальных трактов, полиферацией желчных протоков, жировой дистрофией гепатоцитов. Подкапсульно кровоизлияние с имбибицией прилежащей ткани печени. В сальнике абсцесс с фиброзом и хроническим воспалением окружающих тканей. Ткань трех исследованных лимфоузлов с картиной реактивной гиперплазии. В срезе желчных протоков клетки умеренно дифференцированной аденокарциномы. Заключение: Умеренно дифференцированная аденокарцинома внепеченочных желчных протоков, pT3 pN (0/3) cM0; grade 2; R1, Pn0, V0 (таблица 4.7).

Таблица 4.7. Балльная оценка факторов риска

Фактор риска	Балльная оценка
Стадия TNM (I-IV)	1
Тип распространения опухоли по печеночным протокам по Bismuth-Corlette	1
Степень дифференцировки клеток опухоли	2
Микрососудистая инвазия	1
Периневральная инвазия	1
Радикальность операции (R)	1

Расчет вероятности прогноза: $P = (1+1+2+1+1+1)/14 \times 100\% = 50\%$, что соответствует варианту 1 (более 24 мес., «хороший» прогноз) для ожидаемой выживаемости пациента.

Результаты иммуногистохимического исследования:

Уровень экспрессии N-cadherin составил «+» (слабо выраженная), индекс пролиферации Ki-67 - 10%, что расценено как «умеренная» агрессивность

опухоли. Пациент умер через 29 месяцев после проведения операции в связи с рецидивом заболевания: рецидив опухоли в терминальном отделе общего желчного протока (интрапанкреатическая часть холедоха).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опухоль проксимальных внепеченочных желчных протоков составляет 50-70% всех случаев ХЦР. Поздняя обращаемость за медицинской помощью, центральная локализация опухоли, близкое расположение к сосудистым структурам ворот печени, выраженный инвазивный потенциал опухоли, отдаленное метастазирование обуславливают низкую резектабельность опухоли на момент манифестации и первичной диагностики [13, 27, 128].

Несмотря на это, в течение последних двух десятилетий отмечается активный рост количества резекционных вмешательств на печени при ВХ, в том числе более широкое применение обширных резекций и сочетанных вмешательств, сопровождающихся резекцией сосудов с их последующей реконструкцией. Разрабатываются новые химиотерапевтические препараты, внедряются новые протоколы предоперационной подготовки и послеоперационного ведения больных, что позволило улучшить ближайшие и отдаленные результаты лечения этой группы больных [13, 27, 86, 95]. При этом даже при выполнении R0-резекции частота рецидивов достигает 50-70% [91, 105].

Для стадирования опухолевого поражения в настоящее время используются различные классификации (Bismuth-Corlette (1975), Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (1998), TNM (AJCC, 2010)), каждая описывает конкретные параметры опухоли Клатскина, однако их ценность как в предоперационной диагностике резектабельности, так и в оценке биологии опухоли и прогнозировании течения заболевания минимальна.

В литературных источниках описана взаимосвязь между отдаленной выживаемостью и стадией онкологического заболевания (по системе TNM), а также распространением опухоли по желчным протокам (по Bismuth-Corlette) [102, 125]. Однако данные нашего исследования это не подтвердили.

Хирургическое лечение и прогноз отдаленной послеоперационной выживаемости пациентов с ВХ, несмотря на непрерывное расширение знаний о болезни и совершенствование лечебно-диагностических методик, сохраняют свою

актуальность и в настоящее время. Обширные резекционные вмешательства на печени, внепеченочных желчных протоках и магистральных сосудах являются «золотым» стандартом лечения ВХ. При этом общая 5- и 10-летняя выживаемость достигает 40,4% и 29,9%, соответственно [46].

Больным, включенным в данное диссертационное исследование, выполнялись гемигепатэктомии (у 15 (41,7%) больных) и расширенные резекции печени (у 8 (23,1%) больных) с резекцией желчных протоков, резекция SI печени в 16 (44,4%) случаев. Общая 1-, 2-, 3- и 5-летняя выживаемость составила 77,9%, 63,4%, 31,7%, 21,1% соответственно. Медиана общей выживаемости составила 30,07 мес.

В нашем исследовании R0 резекция достигнута у 15 (41,7%) больных. При сравнении общая 1-, 3-, 5 -летняя выживаемость среди пациентов с R0-резекцией составила 92,3%, 46,1%, 34,6% соответственно; при R1/R2 резекции общая 1-, 3 -летняя выживаемость составила 78,9%, 18,8% соответственно, 5-летней выживаемости не отмечено ($p = 0,0045$). Таким образом, выполнение R0 – резекции должно быть целью хирургического лечения, что требует «агрессивной» хирургической тактики и проведения полного удаления опухоли путем резекции внепеченочных желчных протоков и правосторонней или левосторонней гемигепатэктомии с резекцией I сегмента печени.

По нашим данным у 21 больного, которым была выполнена не радикальная операция (резекция R1 и R2), общей 5-летней продолжительности жизни не достиг ни один больной, максимальная таковая составила 38 мес. При этом общая выживаемость составила 18,8% в течение 36 мес., что является вполне удовлетворительным результатом, показывающим необходимость проведения оперативных вмешательств у больных с местнораспространенными опухолями (особенно при IV типе по Bismuth-Corlette) при отсутствии отдаленных метастазов.

Несмотря на то, что в данном исследовании преобладали пациенты с I-IIIa (20 (55,6%) больных) стадией заболевания, общая 5-летняя выживаемость составила 21,1%. Следует отметить, что отдаленные результаты зависят не только

от объема и радикальности проведенного оперативного вмешательства, но и от «биологических» характеристик опухоли (молекулярных факторов).

Таким образом, отдельного рассмотрения требует проблема поиска и выбора прогностически значимых факторов ВХ, обуславливающих течение заболевания в послеоперационном периоде и характеризующих биологические свойства опухоли. Большинство исследований в настоящее время посвящено анализу различных лабораторных и клинико-патологических параметров воротной холангиокарциномы и их влиянию на отдаленные результаты лечения. Имеющиеся работы многочисленны, однако выводы, к которым проходят авторы, носят противоречивый характер [46, 56, 91, 105, 125].

Согласно руководству Национальной онкологической сети (США) (National Comprehensive Cancer Network, 2016) выполнение нерадикальной операции (R1/R2 резекция) и метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов у больных воротной холангиокарциномой являются значимыми факторами неблагоприятного прогноза. При этом рекомендации NCCN основаны на мета-анализе данных лечения больных с ХЦР различной локализации, включая ретроспективные серии, и только одно рандомизированное контролируемое исследование результатов лечения рака желчного пузыря.

По данным литературы, неблагоприятные результаты хирургического лечения обусловлены следующими факторами: периневральная инвазия, R1 резекция, метастазы в лимфатические узлы, стадия заболевания III и выше, T стадия 3 и выше, умеренно- и низкодифференцированные опухоли, инвазия в хвостатую долю печени [13, 46, 95, 125], что было также подтверждено в проведенной нами работе.

Распространение заболевания путем периневральной и микрососудистой инвазии в прилежащие структуры ворот печени является характерным признаком воротной холангиокарциномы [27, 89]. В нашей работе наличие периневральной инвазии было диагностировано у 17 (73,9%) из 23 пациентов, которым проводилось гистологическое исследование. При исследовании

интраоперационного материала микрососудистая инвазия опухолевых клеток нами была выявлена менее чем в половине случаев (у 9 (40,9%) из 22 больных).

На данный момент существуют немногочисленные исследования, посвященные комплексному изучению факторов опухоли и разработке прогностических моделей, определяющих отдаленные результаты лечения воротной холангиокарциномы [46, 56, 125].

В 2015 году группой ученых под руководством Groot Koerkamp В. проведено исследование, целью которого было получение и проверка прогностической номограммы для определения болезнь-специфической выживаемости после радикального хирургического лечения перихилярных опухолей. К основным факторам прогноза отнесены поражение регионарных лимфоузлов (для постановки стадии N, авторы рекомендуют исследовать не менее 3 лимфатических узлов 12 группы), статус края резекции и степень дифференцировки клеток опухоли. Однако, по мнению авторов, калибровка номограммы не оптимальна, т.к. болезнь-специфическая выживаемость между двумя учреждениями, на базе которых проводилось исследование, различна, что и определяет необходимость дальнейших исследований [46].

Приведенная система анализа не учитывает степень тяжести (стадию) онкологического заболевания у пациента, также не изучается ряд прогностически значимых клиничко-морфологических параметров опухоли, а именно наличие периневральной и микрососудистой инвазии, что является значимым для отдаленного прогноза течения болезни.

В ходе выполнения данной диссертационной работы выявлено, что при монофакторном анализе наиболее важными предикторами послеоперационной выживаемости были стадия заболевания (pTNM) ($p = 0,028$), степень дифференцировки клеток опухоли ($p = 0,00003$), наличие периневральной ($p = 0,0114$) и микрососудистой инвазии ($p = 0,038$), радикальность оперативного вмешательства (края резекции) ($p = 0,0219$).

При мультивариантном анализе выявлено, что к наиболее значимым клиничко-морфологическим факторам, влияющим на прогноз течения заболевания,

относятся: резекция 1 сегмента печени ($p = 0,0137$) и степень дифференцировки клеток опухоли (умеренно- и низкодифференцированная аденокарцинома является фактором неблагоприятного прогноза течения заболевания, $p = 0,0011$).

Анализ литературы показал, что в основном при исследовании биомолекулярных маркеров опухоли Клатскина определяют только взаимосвязь между степенью экспрессии опухолевых маркеров и отдаленными результатами лечения без учета основных клиничко-морфологических характеристик опухоли, что важно с точки зрения построения отдаленного прогноза течения заболевания [35, 75, 93, 114].

При изучении взаимосвязи отдаленных результатов лечения от прогностически значимых клиничко-морфологических параметров опухоли возникла необходимость в исследовании уровня экспрессии молекулярных факторов опухоли, позволяющих в комплексе с клиничко-морфологическими факторами более эффективно прогнозировать отдаленные результаты хирургического лечения ВХ. В связи с этим нами дополнительно изучены биомолекулярные факторы опухоли, которые могли иметь прогностическое значение для исхода заболевания. К таким факторам были отнесены: СК7, СК20, N-cadherin, Ki-67, Muc 1, 2, 5AC и 6. Между экспрессией N-cadherin и общей выживаемостью выявлена умеренная степень корреляции (0,694), связь между исследуемыми признаками (степень экспрессии и продолжительность жизни) – прямая (зависимость признаков статистически значима ($p < 0,05$)). С учетом полученных данных, чем более выражена экспрессия N-cadherin, тем хуже прогноз течения заболевания.

Таким образом, клиничко-молекулярные параметры опухоли и индивидуальные особенности организма играют важную роль при воротной холангиокарциноме. Проведенное иммуногистохимическое исследование подтверждает, что степень выраженности эпителиально-мезенхимального перехода имеет большое значение в развитии опухолевой прогрессии у пациентов с ВХ в послеоперационном периоде, и соответственно, может использоваться в качестве маркера прогноза отдаленной выживаемости.

Анализ отдаленной выживаемости у 10 пациентов, которым проводилось иммуногистохимическое исследование, показал, что независимо от объема операции при наличии большого числа неблагоприятных прогностических факторов риска (клинико-морфологических, биомолекулярных) исход был неблагоприятным.

На основании мультимодального подхода к оценке факторов риска неблагоприятного прогноза течения заболевания разработана прогностическая система, представленная балльной шкалой.

Разработанный нами способ оценки индивидуального прогноза отдаленной выживаемости у больных с опухолями проксимальных желчных протоков учитывает как клинические, так и гистологические характеристики опухоли. Разработанная прогностическая модель, основанная на комплексной оценке достоверно значимых клинико-морфологических факторов опухоли, в перспективе может быть дополнительным руководством для клинического ведения больных воротной холангиокарциномой после хирургического лечения.

По предварительным данным, применение многофакторной прогностической системы, с учетом только клинико-морфологических факторов опухоли, позволило в 88,9% определить правильную продолжительность жизни пациента. Использование молекулярных факторов увеличивает вероятность правильного прогноза до 90%, однако полученные результаты требуют дальнейшего изучения.

Пациенты с местнораспространенной опухолью Клатскина, у которых диагностирована умеренно- и низкодифференцированная опухоль, R1/R2 резекция, выражена периневральная и микрососудистая инвазия клеток опухоли, выражена экспрессия N-cadherin имеют худший прогноз по выживаемости.

Можно предполагать, что использование прогностических шкал будет способствовать оптимизации лечебной тактики у больных с ВХ, определять индивидуальные показания к проведению адъювантной химиолучевой терапии, направленной на увеличение продолжительности жизни больных с неблагоприятным прогнозом течения заболевания.

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 перинеуральной 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 периневральной 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бахтин В.А. Оценка качества жизни после паллиативных желчеотводящих вмешательств у больных с радикально неоперабельным раком внепеченочных желчных протоков, осложненным механической желтухой / В.А. Бахтин, С.М. Аракелян // Медицинский альманах (спецвыпуск). – май 2008. – С. 88-89.
2. Бекбауов С.А. Роль дозированной декомпрессии желчных протоков в лечении острого гнойного холангита / С.А. Бекбауов, К.Г. Глебов, А.Е. Котовский // Эндоскопическая хирургия. – 2012. - №2. - С. 21 – 25.
3. Берелавичус С.В. Применение роботизированного хирургического комплекса da Vinci в хирургии печени / С.В. Берелавичус, И.С. Поляков, А.Г. Кригер, Д.С. Горин // Анналы хирургической гепатологии. – 2014. – Т.19 - №4. - С. 110-114.
4. Бурякина С.А. Опухоль Клатскина: современные аспекты дифференциальной диагностики / С.А. Бурякина, Г.Г. Кармазановский // Анналы хирургической гепатологии. – 2012. - Т.17. - №1. - С.100-109.
5. Вишневский В.А.. Отдаленные результаты радикальных и условно радикальных резекций при воротной холангиокарциноме / В.А. Вишневский, М.Г. Ефанов, Р.З. Икрамов, Н.А. и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 2013.- Т.18. - №2. - С. 9 – 20.
6. Вишневский В.А. Диагностика и хирургическое лечение рака проксимальных печеночных протоков (опухолей Клатскина) / В.А. Вишневский, Т.И. Тарасюк // Практическая онкология. – 2004. - Т.5. - №2. - С.126 – 134.
7. Гальперин Э.И. Темп декомпрессии желчных протоков при механической желтухе опухолевой этиологии / Э.И. Гальперин, А.Е. Котовский, О.Н. Момунова // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011.- №8.- С.33 – 40.
8. Глебов К.Г. Критерии выбора конструкции эндопротеза для эндоскопического стентирования желчных протоков / К.Г. Глебов, А.Е.

- Котовский, Т.Г. Дюжева // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2014. – Т.19. - №2. - С. 55-65.
9. Гранов Д.А. Спорные вопросы диагностики и хирургического лечения больных с подозрением на протоковую холангиокарциному / Д.А. Гранов, В.В. Боровик, И.В. Тимергалин // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2015. - Т.20. - №4. - С.45-50.
 10. Данилов М.В. Хирургическое лечение больных механической желтухой опухолевой этиологии / М.В. Данилов, В.П. Глабай, А.Е. Кустов, и др// *Анналы хирургической гепатологии*. - 1997. - Т. 2. - С. 110 – 116.
 11. Ермолов А.С. Декомпрессия желчевыводящих путей для подготовки больных с обтурационной желтухой и холангитом к радикальной операции / А.С. Ермолов, С.В. Юрченко, Н.А. Дасаев // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*.- 1994.- № 9.- С. 24-28.
 12. Ефанов М.Г. Первые результаты радикальных и условно радикальных результатов резекций при опухоли Клацкина / М.Г. Ефанов, Р.Б. Алиханов, В.В. Цвиркун, О.В. Мелехина, П.П. Ким, И.В. Казаков, А.Н. Ванькович, М.Ю. Бяхов // *Злокачественные опухоли*. - 2014. - № 4 (11). - С. 44-53.
 13. Журавлев В.А. Хирургия воротной холангиокарциномы / В.А. Журавлев, В.М. Русинов, В.В. Булдаков, В.А. Бахтин, Д.Н. Воробьев // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2013. - Т.18. - №2. - С. 31- 41.
 14. Измайлова Л.Г. Ультразвуковая диагностика гиллюсной холангиокарциномы / Л.Г. Измайлова, А.Г. Приходько, А.В. Андреев, А.И. Васильев // *Медицинская визуализация*. – 2011. - №6. - С. 9 – 12.
 15. Котенко О.Г. Эмболизация ветвей воротной вены в подготовке больных к обширной резекции печени / О.Г. Котенко, В.А. Кондратюк, Д.А. Федоров, А.В. Гриненко, А.А. Коршак, А.В. Гусев, А.О. Попов, М.С. Григорян // *Анналы хирургической гепатологии*.-2014.-Т.19.- №4.-С.21-25.
 16. Котенко О.Г. Хирургическое лечение хиллярной холангиокарциномы с инвазией в воротную вену / О.Г. Котенко, А.О. Попов, А.А. Коршак, А.В.

- Гриненко, А.В. Гусев и др. // Украинский журнал хирургии. – 2013. - №3(22). - С. 7 – 13.
17. Липницкий Е.М. Роль декомпрессии желчных протоков и коррекции дисбиоза кишечника в лечении механической желтухи / Е.М. Липницкий, Э.И. Гальперин, А.Е. Котовский, А.В. Чжао, В.Г. Истратов, С.А. Бекбауов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2010. - № 12 - С. 46-49.
 18. Майстренко Н.А. Холангиоцеллюлярный рак (особенности диагностики и лечения) / Н.А.Майстренко, С.Б. Шейко, А.В. Алентьев, Ф.Х. Азимов // Практическая онкология. – 2008. – Т.9. - № 4. - С. 229-236.
 19. Макаров Е.С. Внутрипротоковая лучевая терапия неоперабельных больных холангиоцеллюлярным раком: технические аспекты и отдаленные результаты / Е.С. Макаров Е.С., М.И.Нечушкин, Б.И.Долгушин, и др. // Анналы хирургической гепатологии. - 2014. - Т.19.- № 4.- С. 48-55.
 20. Макаров Е.С. Внутривисцеральная лучевая терапия местнораспространенного рака внепеченочных желчных протоков / Е.С. Макаров, М.И. Нечушкин, Б.И. Долгушин, И.А. Файнштейн // Анналы хирургической гепатологии.- 2006.- Т.11. - №1. - С. 45-53.
 21. Макаров Е.С. Внутривисцеральная лучевая терапия в комбинированном лечении больных опухолью Клацкина / Е.С. Макаров, М.И. Нечушкин, А.В. Кукушкин, Н.Р. Молодикова //Анналы хирургической гепатологии. -2013. – Т.18. - №2. - С. 50-60.
 22. Назыров Ф. Г. Диагностика и тактика хирургического лечения больных опухолями проксимальных отделов внепеченочных желчных протоков / Ф.Г. Назыров, А.И. Икрамов, М.М. Акбаров, и др. // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. – 2010. - №6. - С. 36-39.
 23. Назыров Ф.Г. Хирургическая тактика при опухолях проксимальных желчных протоков / Ф.Г. Назыров, М.М. Акбаров, А.И. Икрамов, и др. // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2010. - Т. 5. - № 2. - С. 33-37.

24. Назыров Ф.Г. Чрескожные эндобилиарные вмешательства в хирургическом лечении больных с проксимальными опухолями желчных протоков / Ф.Г. Назыров, М.М. Акбаров, О.А. Омонов, и др. // Медицинская визуализация. – 2011.- №1.- С.23 – 27.
25. Патютко Ю.И. Хирургическое и комбинированное лечение больных с опухолью Клатскина / Ю.И. Патютко, А.Н. Поляков, А.Г. Котельников, и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И.Пирогова. – 2014. – №10. – С.25-32.
26. Седов А.П. Опухоль Клатскина: проблема диагностики и лечения / А.П. Седов, И.П. Парфенов, А.М. Мишустин, и др. // Анналы хирургической гепатологии. - 2006. - Т.11.- №3. - С.11-16.
27. Щерба А.Е. Хирургическое лечение опухоли Клатскина / А.Е. Щерба, Ю.В. Слободин, О.О. Руммо, и др.// Новости хирургии. – 2009.- Т.17. - №4. - С. 92 – 98.
28. American Joint Committee on Cancer. AJCC cancer staging manual. 7th ed. New York/London: Springer; 2011.
29. Araki K. E/N-cadherin switch mediates cancer progression via TGF- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition in extrahepatic cholangiocarcinoma./ K. Araki, T. Shimura, H.Suzuki, et al.// Br J Cancer. – 2011. –Vol.105. -№12. – P.1885-1893. doi: 10.1038/bjc.2011.452.
30. Belghiti J. Preoperative optimization of the liver for resection in patients with hilar cholangiocarcinoma./ J.Belghiti, S.Ogata// HPB (Oxford). – 2005. –Vol.7. - №4. – P.252-253.
31. Berardi R. Resected biliary tract cancers: a novel clinical-pathological score correlates with global outcome./ R.Berardi, F.Mocchegiani, C.Pierantoni, et al.// Dig Liver Dis. – 2013. – Vol.45. - №1. – P.70-74. doi: 10.1016/j.dld.2012.08.012
32. Bismuth H. Intrahepatic cholangioenteric anastomosis in carcinoma of the hilus of the liver./ H. Bismuth, M.B. Corlette // Surg Gynecol Obstet.-1975.-№140(2).- P.170-178.
33. Bismuth H. Management strategies in resection for hilar cholangiocarcinoma./ H. Bismuth, R. Nakache, T. Diamond.// Ann Surg.- 1992.- №215.-P.31–38.

34. Bosman F.T. WHO Classification of Tumors of the Digestive System. 4th ed./ F.T.Bosman, F. Carneiro, R.H. Hruban, et al.// IARC: Lyon, 2010:P. 195-278.
35. Briggs C.D. Prognostic molecular markers in cholangiocarcinoma: a systematic review / C.D. Briggs, C.P. Neal, C.D. Mann, et al.// Eur J Cancer.- 2009. - 45(1). – P. 33-47. doi: 10.1016/j.ejca.2008.08.024.
36. Bulajic M. Clinical outcome in patients with hilar malignant strictures type II Bismuth-Corlette treated by minimally invasive unilateral versus bilateral endoscopic biliary drainage / M.Bulajic, N. Panic, M. Radunovic, et al.// Hepatobiliary Pancreat Dis Int. – 2012. – №11. – P.209-214.
37. Castellano-Megías V.M. Pathological aspects of so called "hilar cholangiocarcinoma" / V.M. Castellano-Megías, A.C. Ibarrola-de, F. Colina-Ruizdelgado.// World J Gastrointest Oncol. – 2013. – Vol.5. - №7. – P.159-170. doi: 10.4251/wjgo.v5.i7.159..
38. Chen W. Combined portal vein resection in the treatment of hilar cholangiocarcinoma: a systematic review and meta-analysis./ W. Chen, K. Ke, Y.L.Chen.//Eur J Surg Oncol.- 2014. – Vol.40. -№5. – P.489-495. doi: 10.1016/j.ejso.2014.02.231.
39. Cho A. Laparoscopy in the management of hilar cholangiocarcinoma / A. Cho, H. Yamamoto, O. Kainuma, Y. Muto, et al.// World J Gastroenterol. -2014. – Vol.20. - №41. – P/15153-15157. doi: 10.3748/wjg.v20.i41.15153.
40. Choi J.Y. Hilar cholangiocarcinoma: role of preoperative imaging with sonography, MDCT, MRI, and direct cholangiography / J.Y.Choi, M.J.Kim, J.M.Lee, et al.// AJR Am J Roentgenol. – 2008. – Vol.191. -№5. – P.1448-1457. doi: 10.2214/AJR.07.3992.
41. Chryssou E. Hilar cholangiocarcinoma: MR correlation with surgical and histological findings./ E.Chryssou, J.A.Guthrie, J. Ward, P.J. Robinson.// Clin Radiol. – 2010. – Vol.65. - №10. – P. 781-788. doi: 10.1016/j.crad.2010.04.018.
42. Cui X.Y. Role of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in the diagnosis of extrahepatic cholangiocarcinoma./ X.Y. Cui, H.W. Chen// World J Gastroenterol. – 2010. – Vol.16. - №25. – P. 3196-3201.

43. DeOliveira M.L. Liver transplantation for cholangiocarcinoma: current best practice./ M.L.DeOliveira// *Curr Opin Organ Transplant.* – 2014. – Vol.19. -№3. – P. 245-252. doi: 10.1097/MOT.0000000000000087.
44. DeOliveira M.L. Advances in liver surgery for cholangiocarcinoma./ M.L. DeOliveira, P. Kambakamba, P.A. Clavien// *Curr Opin Gastroenterol.* – 2013. – Vol.29. - №3. – P. 293-298. doi: 10.1097/MOG.0b013e3283600a92.
45. Deoliveira M.L. New staging system and a registry for perihilar cholangiocarcinoma./ M.L. Deoliveira, R.D. Schulick, Y. Nimura, C. Rosen, G. Gores, et al./ *Hepatology.* – 2011. – Vol.53. - №4. - P.1363-1371. doi: 10.1002/hep.24227.
46. Ebata T. Proposal to modify the International Union Against Cancer staging system for perihilar cholangiocarcinomas./ T. Ebata, T. Kosuge, S. Hirano, M. Unno, et al.// *Br J Surg.* – 2014. – Vol.101. -№2. – P. 79-88. doi: 10.1002/bjs.9379.
47. Edge S.B. *AJCC Cancer Staging Manual.* 7th ed./ S.B. Edge, D.R.Byrd, C.C. Compton, et al.// New York: Springer-Verlag. – 2010. - P. 219-225.
48. Farges O. Multicentre European study of preoperative biliary drainage for hilar cholangiocarcinoma./ O. Farges, J.M. Regimbeau, D.Fuks, et al.// *Br J Surg.* – 2013. – Vol.100. -№2. – P. 274-283. doi: 10.1002/bjs.8950.
49. Farhat M.H. Prognostic factors in patients with advanced cholangiocarcinoma: role of surgery, chemotherapy and body mass index./ M.H. Farhat, A.I. Shamseddine, A.N. Tawil, et al.//*World J Gastroenterol.* – 2008. –Vol.14.- №20. – P.3224-3230.
50. Fingas C.D. Prognostic assessment of three single-nucleotide polymorphisms (GNB3 825C>T, BCL2-938C>A, MCL1-386C>G) in extrahepatic cholangiocarcinoma./ C.D.Fingas, A. Katsounas, A. Kahraman, et al.// *Cancer Invest.* – 2010. – Vol.28. - №5. – P. 472-478. doi: 10.3109/07357900903095714.
51. Fuks D. Biliary drainage, photodynamic therapy and chemotherapy for unresectable cholangiocarcinoma with jaundice./ D. Fuks, E. Bartoli, R.

- Delcenserie, et al.// *J Gastroenterol Hepatol.* – 2009. – Vol.24. -№11. –P.1745-1752. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.05915.x.
52. Giulianotti P.C. Robot-assisted laparoscopic extended right hepatectomy with biliary reconstruction./ P.C. Giulianotti, F. Sbrana, F.M. Bianco, P. Addeo.// *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* – 2010. – Vol. 20. - №2. – P. 159-163. doi: 10.1089/lap.2009.0383.
53. Gores G.J. Treatment endpoints for advanced cholangiocarcinoma./ G.J. Gores, E.S. Baskin-Bey, T.H. Baron, S.R. Alberts.// *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* – 2004. – Vol. 1. - №1. – P.4-5.
54. Grandadam S. Role of preoperative optimization of the liver for resection in patients with hilar cholangiocarcinoma type III / S. Grandadam, P. Compagnon, A. Arnaud, et al. // *Ann Surg Oncol.* – 2010. – Vol.17. - №12. – P.3155-3161. doi: 10.1245/s10434-010-1168-z.
55. Grendar J. Neoadjuvant therapy for downstaging of locally advanced hilar cholangiocarcinoma: a systematic review./ J. Grendar, P. Grendarova, R. Sinha, E. Dixon.// *HPB (Oxford).* – 2014. – Vol. 16. - №4. – P. 297-303. doi: 10.1111/hpb.12150.
56. Groot Koerkamp B. Survival after resection of perihilar cholangiocarcinoma-development and external validation of a prognostic nomogram./ B. Groot Koerkamp, J.K. Wiggers, M. Gonen, et al.// *Ann Oncol.* – 2015. – Vol.26. - №9. –P.1930-1935. doi: 10.1093/annonc/mdv279.
57. Gruenberger B. Cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with unresectable advanced or metastatic biliary tract cancer: a phase 2 study./ B. Gruenberger, J. Schueller, U. Heubrandtner, et al.// *Lancet Oncol.* - 2010. – Vol.11. - №12. – P.1142-1148. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70247-3.
58. Grünhagen D.J. Metal stents: a bridge to surgery in hilar cholangiocarcinoma./ D.J Grünhagen, D.F. Dunne, R.P. Sturgess, et al.// *HPB (Oxford).* – 2013. – Vol.15. - №5. - P. 372-378. doi: 10.1111/j.1477-2574.2012.00588.x.

59. Gumbs A.A. Minimally invasive approaches to extrapancreatic cholangiocarcinoma./ A.A. Gumbs, N. Jarufe, B. Gayet.// *Surg Endosc.* – 2013. – Vol. 27. - №2. – P.406-414. doi: 10.1007/s00464-012-2489-8.
60. Hadi Y.B. Autoimmune pancreatitis mimicking Klatskin tumour on radiology./ Y.B. Hadi, A.M. Sohail, Z. Haider.// *BMJ Case Rep.* – 2015. - pii: bcr2014206749. doi: 10.1136/bcr-2014-206749.
61. Hasegawa S. Surgical resection of hilar cholangiocarcinoma: analysis of survival and postoperative complications./ S. Hasegawa, I. Ikai, H. Fujii, E. Hatano, et al.// *World J Surg.* – 2007. – Vol. 31. - №6. – P.1256-1263.
62. Heimbach J.K.. Transplantation for hilar cholangiocarcinoma / J.K. Heimbach, M.G. Haddock, S.R. Alberts, S.L. Nyberg, et al. // *Liver Transpl.* – 2004. - 10(10 Suppl 2). - S. 65-68.
63. Hemming A.W. Surgical management of hilar cholangiocarcinoma / A.W. Hemming, A.I. Reed, S. Fujita, et al. // *Ann Surg.* – 2005. – Vol.241. - №5. – P. 693-699; discussion 699-702.
64. Hirano S. Outcome of surgical treatment of hilar cholangiocarcinoma: a special reference to postoperative morbidity and mortality / S. Hirano, S. Kondo, E. Tanaka, T. Shichinohe, et al. // *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* – 2010. – Vol.17. - №4. – P.455-462. doi: 10.1007/s00534-009-0208-1.
65. Hwang S. Reappraisal of percutaneous transhepatic biliary drainage tract recurrence after resection of perihilar bile duct cancer / S. Hwang, G.W. Song, T.Y. Ha, Y.J. Lee, et al. // *World J Surg.* – 2012. – Vol. 36. - №2. – P.379-385. doi: 10.1007/s00268-011-1364-4.
66. Igami T. Surgical treatment of hilar cholangiocarcinoma in the "new era": the Nagoya University experience / T. Igami, H. Nishio, T. Ebata, et al. // *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* – 2010. – Vol.17. - №4. – P.449-454. doi: 10.1007/s00534-009-0209-0.
67. Imamura H. Preoperative portal vein embolization: an audit of 84 patients / H. Imamura, R. Shimada, M. Kubota, et al. // *Hepatology.* – 1999. – Vol.29. -№4. – P.1099-1105.

68. Jarnagin W.R. Staging, resectability, and outcome in 225 patients with hilar cholangiocarcinoma / W.R. Jarnagin, Y. Fong, R.P. DeMatteo, et al. // *Ann Surg.* – 2001. – Vol.234. – P.507–517; discussion 517-519.
69. Joseph S. Staging laparoscopy for cholangiocarcinoma / S.Joseph, S.Connor, O.J.Garden // *HPB (Oxford)*. – 2008. - №10. – P.116-119.
70. Kambakamba P. Perihilar cholangiocarcinoma: paradigms of surgical management./ P. Kambakamba, M.L. DeOliveira// *Am J Surg.* – 2014. – Vol.208. -№4. – P. 563-70. doi: 10.1016/j.amjsurg.2014.05.017.
71. Kamphues C. Preliminary experience with CT-guided high-dose rate brachytherapy as an alternative treatment for hepatic recurrence of cholangiocarcinoma / C. Kamphues, D. Seehofer, F. Collettini, et al. // *HPB (Oxford)*. – 2012. – Vol.14. - №12. – P. 791-797. doi: 10.1111/j.1477-2574.2012.00537.x.
72. Kang M.J. Catheter tract recurrence after percutaneous biliary drainage for hilar cholangiocarcinoma / M.J. Kang, Y.S. Choi, J.Y. Jang, et al. // *World J Surg.* – 2013. – Vol.37. - №2. – P.437-42. doi: 10.1007/s00268-012-1844-1.
73. Kennedy T.J. Role of preoperative biliary drainage of liver remnant prior to extended liver resection for hilar cholangiocarcinoma / T.J. Kennedy, A. Yopp, Y. Qin, et al. // *HPB (Oxford)*. – 2009. – Vol.11. - №5. – P.445-451. doi: 10.1111/j.1477-2574.2009.00090.x.
74. Kloek J.J. Endoscopic and percutaneous preoperative biliary drainage in patients with suspected hilar cholangiocarcinoma / J.J. Kloek, N.A. van der Gaag, Y. Aziz, et al. // *J Gastrointest Surg.* – 2010. – Vol.14. -№1. – P. 119-125. doi: 10.1007/s11605-009-1009-1.
75. Kong D. Prognostic significance of snail expression in hilar cholangiocarcinoma./ D. Kong, J. Liang., R. Li, et al.// *Braz J Med Biol Res.* – 2012. –Vol. 45. -№7. – P. 617-24.
76. Lau S.H. Current therapy of hilar cholangiocarcinoma / S.H. Lau, W.Y. Lau. // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* – 2012. – Vol.11. -№1. – P.12-17.

77. Lee T.Y. Current status of photodynamic therapy for bile duct cancer./ T.Y. Lee, Y.K.Cheon, C.S. Shim// Clin Endosc. – 2013. – Vol. 46. - №1. – P.38-44. doi: 10.5946/ce.2013.46.1.38.
78. Lin E. Laparoscopic extended right hepatectomy, portal lymphadenectomy, and hepaticojejunostomy for hilar cholangiocarcinoma./E. Lin, J.M. Sarmiento// J Laparoendosc Adv Surg Tech A. – 2014. – Vol.24. - №6. – P. 411-416. doi: 10.1089/lap.2013.0574.
79. Liver Cancer Study Group of Japan. The general rules for the clinical and pathological study of primary liver cancer, 4th ed. Tokyo: Kanehara; 2000.
80. Machado M.A. Right trisectionectomy with principle en bloc portal vein resection for right-sided hilar cholangiocarcinoma: no-touch technique / M.A. Machado, F.F. Makdissi, R.C. Surjan. // Ann Surg Oncol. – 2012. –Vol.19. - №4. – P. 1324-1325. doi: 10.1245/s10434-011-2072-x.
81. Madhusudhan K.S. Imaging and interventions in hilar cholangiocarcinoma: A review / K.S. Madhusudhan, S. Gamanagatti, A.K.Gupta// World J Radiol. – 2015. – Vol. 7. -№2. – P.28-44. doi: 10.4329/wjr.v7.i2.28.
82. Manfredi R. Magnetic resonance imaging of cholangiocarcinoma / R. Manfredi, B. Barbaro, G. Masselli, et al. // Semin Liver Dis. – 2004. –Vol.24. - №2. – P.155-164.
83. Mikail C. Primary extrahepatic bile duct lymphoma mimicking Klatskin's tumor, dramatic response to chemotherapy/ C. Mikail, T. Sefa, K. Tamer, et al.// Int J Surg Case Rep. – 2015. - №8C. – P.147-149. doi: 10.1016/j.ijscr.2015.01.034.
84. Miki A. Immunoglobulin g4-related sclerosing cholangitis mimicking hilar cholangiocarcinoma diagnosed with following bile duct resection: report of a case./ A. Miki, Y. Sakuma, H. Ohzawa, et al.// Int Surg. – 2015. – Vol.100. -№3. – P.480-485. doi: 10.9738/INTSURG-D-14-00230.1.
85. Murakami Y. Prognostic factors after surgical resection for intrahepatic, hilar, and distal cholangiocarcinoma / Y. Murakami, K. Uemura, T. Sudo, et al. // Ann Surg Oncol. – 2011. – Vol.18. - №3. – P.651-658. doi: 10.1245/s10434-010-1325-4..

86. Nagino M. Evolution of surgical treatment for perihilar cholangiocarcinoma: a single-center 34-year review of 574 consecutive resections./ M. Nagino, T.Ebata, Y.Yokoyama, et al .// *Ann Surg.* – 2013. – Vol.258. -№1. – P.129-140. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182708b57.
87. Nagino M. Two hundred forty consecutive portal vein embolizations before extended hepatectomy for biliary cancer: surgical outcome and long-term follow-up / M. Nagino, J. Kamiya, H. Nishio, et al. // *Ann Surg.* – 2006. – Vol.243. -№3. – P.364-372. doi: 10.1097/01.sla.0000201482.11876.14.
88. Nakanuma Y. Multistep carcinogenesis of perihilar cholangiocarcinoma arising in the intrahepatic large bile ducts / Y. Nakanuma, M. Sasaki, Y. Sato, et al. // *World J Hepatol.* – 2009. – Vol.1. - №1. – P. 35-42. doi: 10.4254/wjh.v1.i1.35.
89. Nakanuma Y. Clinicopathological characterization of so-called "cholangiocarcinoma with intraductal papillary growth" with respect to "intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPNB)" / Y. Nakanuma, Y. Sato, H. Ojima, et al.// *Int J Clin Exp Pathol.* – 2014. – Vol.7. -№6. – P.3112-3222.
90. Nakazawa T. Isolated intrapancreatic IgG4-related sclerosing cholangitis./ T. Nakazawa, Y. Ikeda, Y. Kawaguchi, et al.// *World J Gastroenterol.*-2015. - Vol.21. - №4. – P. 1334-1343. doi: 10.3748/wjg.v21.i4.1334.
91. Neuhaus P. Oncological superiority of hilar en bloc resection for the treatment of hilar cholangiocarcinoma./ P. Neuhaus, A. Thelen, S. Jonas, G., et al.// *Ann Surg Oncol.* – 2012. - 19(5). - P. 1602-1608. doi: 10.1245/s10434-011-2077-5.
92. Nimura Y. Preoperative biliary drainage before resection for cholangiocarcinoma (Pro) / Y. Nimura // *HPB (Oxford).* – 2008. - №10. - P. 130–133.
93. Nitta T. Prognostic significance of epithelial-mesenchymal transition-related markers in extrahepatic cholangiocarcinoma: comprehensive immunohistochemical study using a tissue microarray / T. Nitta, T. Mitsuhashi, Y. Hatanaka, et al. // *Br J Cancer.* – 2014. – Vol.111. - №7. – P. 1363-72. doi: 10.1038/bjc.2014.415.

94. Nitta T. Autophagy may promote carcinoma cell invasion and correlate with poor prognosis in cholangiocarcinoma / T. Nitta, Y. Sato, X.S. Ren, et al. // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2014. – Vol.7. - №8. – P. 4913-4921.
95. Nuzzo G. Improvement in perioperative and long-term outcome after surgical treatment of hilar cholangiocarcinoma: results of an Italian multicenter analysis of 440 patients./ G. Nuzzo, F. Giuliante, F. Ardito, et al.// *Arch Surg.* – 2012. – Vol.147. - №1. - P. 26-34.
96. Oshiro Y. A novel preoperative fusion analysis using three-dimensional MDCT combined with three-dimensional MRI for patients with hilar cholangiocarcinoma / Y. Oshiro, R. Sasaki, K. Nasu, et al. // *Clin Imaging.* – 2013. – Vol.37. - №4. – P.772-774. doi: 10.1016/j.clinimag.2013.02.002.
97. Otani K. Outcome of surgical treatment of hilar cholangiocarcinoma./ K. Otani, K. Chijiwa, M. Kai et al.// *J Gastrointest Surg.* - 2008. – Vol.12. - №6. - P.1033-1040.
98. Paik W.H. Preoperative biliary drainage in hilar cholangiocarcinoma: When and how?/ W.H. Paik, N. Loganathan, J.H. Hwang.// *World J Gastrointest Endosc.* – 2014. – Vol.6. - №3. – P.68-73. doi: 10.4253/wjge.v6.i3.68.
99. Paolicchi E. A single nucleotide polymorphism in EZH2 predicts overall survival rate in patients with cholangiocarcinoma / E. Paolicchi, P. Pacetti, E. Giovannetti, et al. // *Oncol Lett.* – 2013. – Vol.6. - №5. – P. 1487-1491.
100. Park M.J. Hilar cholangiocarcinoma: value of adding DW imaging to gadoxetic acid-enhanced MR imaging with MR cholangiopancreatography for preoperative evaluation / M.J. Park, Y.K. Kim, S. Lim, et al. // *Radiology.* – 2014. –Vol.270. - №3. – P.768-776. doi: 10.1148/radiol.13130009.
101. Park Y.J. Endoscopic drainage in patients with inoperable hilar cholangiocarcinoma / Y.J. Park, D.H. Kang. // *Korean J Intern Med.* – 2013. – Vol.28. - №1. – P.8-18. doi: 10.3904/kjim.2013.28.1.8.
102. Paul A. Klatskin tumors and the accuracy of the Bismuth-Corlette classification / A. Paul, G.M. Kaiser, E.P. Molmenti, et al.// *Am Surg.* – 2011. – Vol.77. - №12. – P.1695-1699.

103. Potters L. American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ASTRO) and American College of Radiology (ACR) practice guideline for the performance of stereotactic body radiation therapy / L. Potters, B. Kavanagh, J.M. Galvin, et al. // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* – 2010. – Vol.76. - №2. – P. 326-332. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.09.042.
104. Quyn A.J. Photodynamic therapy is associated with an improvement in survival in patients with irresectable hilar cholangiocarcinoma / A.J. Quyn, D. Ziyaie, F.M. Polignano, et al. // *HPB (Oxford).* – 2009. – Vol.11. - №7. – P.570-577. doi: 10.1111/j.1477-2574.2009.00102.x.
105. Ramacciato G. Prognostic factors and long term outcome after surgery for hilar cholangiocarcinoma. Univariate and multivariate analysis / G. Ramacciato, F. Di Benedetto, N. Cautero, et al.// *Chir Ital.* – 2004. – Vol.56. - №6. – P.749-759.
106. Ramia J.M. Hilar cholangiocarcinoma./ J.M. Ramia// *World J Gastrointest Oncol.*-2013. – Vol.5. - №7. – P. 113-114, doi: 10.4251/wjgo.v5.i7.113.
107. Razumilava N. Cholangiocarcinoma / N. Razumilava, G.J. Gores. // *Lancet.* – 2014. – Vol.383. - №9935. – P. 2168-2179. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61903-0.
108. Rea D.J. Transplantation for cholangiocarcinoma: when and for whom? / D.J. Rea, C.B. Rosen, D.M. Nagorney, et al.// *Surg Oncol Clin N Am.* – 2009. – Vol.18. - №2. – P.325-337, ix. doi: 10.1016/j.soc.2008.12.008.
109. Regimbeau J.M. Tumour size over 3 cm predicts poor short-term outcomes after major liver resection for hilar cholangiocarcinoma. By the HC-AFC-2009 group. / J.M. Regimbeau, D. Fuks, P. Pessaux, et al. // *HPB (Oxford).* – 2015. – Vol.17. - №1. – P.79-86. doi: 10.1111/hpb.12296.
110. Rizvi S. Pathogenesis, diagnosis, and management of cholangiocarcinoma./ S. Rizvi, G.J.Gores.// *Gastroenterology.* – 2013. – Vol.145. - №6. P. 1215–1229; doi: 10.1053/j.gastro.2013.10.013.
111. Sakamoto E. The pattern of infiltration at the proximal border of hilar bile duct carcinoma: a histologic analysis of 62 resected cases / E. Sakamoto, Y. Nimura,

- N. Hayakawa, et al.// *Ann Surg.* – 1998. – Vol.227. - №3. – P. 405–411. PMID: PMC1191279.
112. Sano T. One hundred two consecutive hepatobiliary resections for perihilar cholangiocarcinoma with zero mortality / T. Sano, K. Shimada, Y. Sakamoto, et al. // *Ann Surg.* – 2006. – Vol. 244. - №2. – P. 240-247.
113. Santoro E. Klatskin tumor. A study of 15 resected cases / E. Santoro, M. Sacchi, F. Carboni, et al. // *Chirurgie.* – 1999. – Vol.124. - №2. – P.132-139; discussion P. 139-140.
114. Sato Y. Epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- β 1/Snail activation aggravates invasive growth of cholangiocarcinoma / Y. Sato, K. Harada, K. Itatsu, et al.// *Am J Pathol/* - 2010. – Vol.177. - №1. – P.141-152. doi: 10.2353/ajpath.2010.090747.
115. Schiffman S.C. Overall survival peri-hilar cholangiocarcinoma: R1 resection with curative intent compared to primary endoscopic therapy / S.C. Schiffman, N.P. Reuter, K.M. McMasters, et al.// *J Surg Oncol.* – 2012. – Vol.105. - №1. – P.91-96. doi: 10.1002/jso.22054.
116. Shi S.R. Antigen retrieval technique utilizing citrate buffer or urea solution for immunohistochemical demonstration of androgen receptor in formalin-fixed paraffin sections/ S.R. Shi, B. Chaiwun, L. Young, et al. // *Journal Histochem. Cytochem.* – 1993. – Vol. 41, № 11. – P. 1599 – 1604.
117. Shi S.R. Antigen retrieval immunohistochemistry under the influence of pH using monoclonal antibodies/ S.R. Shi, S.A. Imam, L. Young, et al. // *Journal Histochem. Cytochem.* – 1995. – Vol. 43, № 2. – P. 193 – 201.
118. Singhal D. Palliative management of hilar cholangiocarcinoma / D. Singhal, T.M.van Gulik, D.J.Gouma.// *Surg Oncol.* – 2005. – Vol.14. - №2. – P.59-74.
119. Soares K.C. Hilar cholangiocarcinoma: diagnosis, treatment options, and management./ K.C. Soares, I. Kamel, D.P. Cosgrove, et al. // *Hepatobiliary Surg Nutr.* – 2014. – Vol.3. - №1. - P. 18-34, doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.02.05.
120. Song C. Nomogram prediction of survival and recurrence in patients with extrahepatic bile duct cancer undergoing curative resection followed by adjuvant

- chemoradiation therapy / C. Song, K. Kim, E.K. Chie, et al. // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* – 2013. – Vol. 87. - №3. – P. 499-504. doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.06.2041.
121. Suarez-Munoz M.A. Risk factors and classifications of hilar cholangiocarcinoma / M.A. Suarez-Munoz, J.L. Fernandez-Aguilar, B. Sanchez-Perez, et al. // *World J Gastrointest Oncol.* – 2013. – Vol.5. - №7. – P.132-138. doi: 10.4251/wjgo.v5.i7.132.
122. Toouli J. Editorial comment/ J. Toouli, J.F. Gigot, D. Gouma, et al.// *HPB (Oxford).* - 2008. - Vol. 10. - P. 71.
123. Tyson G.L. Risk factors for cholangiocarcinoma / G.L. Tyson, H.B. El-Serag // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 54. - №1. – P.173-84. doi: 10.1002/hep.24351..
124. Valle J. Cisplatin plus gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer./ J. Valle, H. Wasan, D.H. Palmer, et al. // *N Engl J Med.* – 2010. - №362. – P.1273-1281.
125. van der Gaag N.A. Survival analysis and prognostic nomogram for patients undergoing resection of extrahepatic cholangiocarcinoma / N.A. van der Gaag, J.J. Kloek, J.K. de Bakker, et al. // *Ann Oncol.*- 2012. -№23. – P. 2642–2649.
126. Wang T.T. Beclin 1 deficiency correlated with lymph node metastasis, predicts a distinct outcome in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma / T.T. Wang, Q.H. Cao, M.Y. Chen, et al.// *PLoS One.* – 2013. – Vol.8. -№11. – P.e80317. doi: 10.1371/journal.pone.0080317.
127. Wang Y. Surgical procedure and long-term survival of hilar cholangiocarcinoma / Y. Wang, H. Yang, C. Shen, et al.// *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – Vol.8. - №1. – P. 1122-1128.
128. Wentrup R. Photodynamic Therapy Plus Chemotherapy Compared with Photodynamic Therapy Alone in Hilar Nonresectable Cholangiocarcinoma / R. Wentrup, N. Winkelmann, A. Mitroshkin, et al. // *Gut Liver.* – 2016. – vol.10. – №3. – P.470-475. doi: 10.5009/gnl15175.

129. Wiedmann M. Neoadjuvant photodynamic therapy as a new approach to treating hilar cholangiocarcinoma: a phase II pilot study / M. Wiedmann, K. Caca, F. Berr et al.// *Cancer*.- 2003.- Vol.97. -№11- P.2783-2790.
130. Witzigmann H. Guidelines for palliative surgery of cholangiocarcinoma / H. Witzigmann, H. Lang, H. Lauer.// *HPB (Oxford)*. - 2008. - Vol.10. - №3.- P.154-160. doi: 10.1080/13651820801992567.
131. Xiang S. Hilar cholangiocarcinoma: controversies on the extent of surgical resection aiming at cure./ S. Xiang, W.Y. Lau, X.P. Chen // *Int J Colorectal Dis*.- 2015. - Vol.30. - №2.- P.159-171. doi: 10.1007/s00384-014-2063-z.
132. Xiong J.J. Preoperative biliary drainage in patients with hilar cholangiocarcinoma undergoing major Hepatectomy / J.J.Xiong, Q.M. Nunes, W. Huang et al. // *World J Gastroenterol*. - 2013. - Vol. 19. - № 46 - P.8731-8739. doi: 10.3748/wjg.v19.i46.8731.
133. Yamaguchi J. Histone deacetylase inhibitor (SAHA) and repression of EZH2 synergistically inhibit proliferation of gallbladder carcinoma./ J. Yamaguchi, M. Sasaki, Y. Sato et al.// *Cancer Sci*. - 2010. - Vol.101. - №2. - P.355-362. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01387.x.
134. Yi B. Surgical procedure and prognosis of hilar cholangiocarcinoma./ B. Yi, B.H. Zhang, Y.J. Zhang et al.// *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. - 2004. - Vol.3. - №3. - P.453-457.
135. Yu H. Laparoscopic resection of Bismuth type I and II hilar cholangiocarcinoma: an audit of 14 cases from two institutions / H. Yu, S.D. Wu, D.X. Chen, et al.// *Dig Surg*.- 2011.- vol. 28. -№1. – P.44-49. doi: 10.1159/000322398.
136. Zabron A. The challenge of cholangiocarcinoma: dissecting the molecular mechanisms of an insidious cancer./ A. Zabron, R.J. Edwards, S.A. Khan.// *Dis Model Mech*.-2013. – Vol.6. - №2. - P.281-292. doi: 10.1242/dmm.010561.
137. Zhang K.J. The E-cadherin repressor slug and progression of human extrahepatic hilar cholangiocarcinoma / K.J. Zhang, D.S. Wang, S.Y. Zhang, et al.// *J Exp Clin Cancer Res*.-2010.- Vol.29. - №1. – P. 88. doi: 10.1186/1756-9966-29-88.

138. Zhang W. Perihilar cholangiocarcinoma: Current therapy / W. Zhang, L.N. Yan // World J Gastrointest Pathophysiol.- 2014.- Vol.5. - №3. – P. 344-354. doi: 10.4291/wjgp.v5.i3.344.