

Гурмиков Беслан Нуралиевич

**ВНУТРИПЕЧЕНОЧНЫЙ ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ РАК:
ПРИНЦИПЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
И ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ВЫЖИВАЕМОСТИ**

3.1.9. Хирургия (медицинские науки)

3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты:
доктор медицинских наук, профессор
Чжао Алексей Владимирович;
доктор медицинских наук
Грицкевич Александр Анатольевич

Работа выполнена на базе онкологического отделения хирургических методов лечения федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук

Чжао Алексей Владимирович
Грицкевич Александр Анатольевич

Официальные оппоненты:

Гранов Дмитрий Анатольевич — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Восканян Сергей Эдуардович — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель главного врача по хирургической помощи, руководитель центра хирургии и трансплантологии ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России;

Рябов Андрей Борисович — доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по хирургии Московского научного исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена-филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__»_____2023 г. в __:__ часов на заседании диссертационного совета 21.1.044.01 при ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 27.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России и на сайте www.vishnevskogo.ru

Автореферат разослан «__»_____2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Сапелкин Сергей Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Внутривеночный холангиоцеллюлярный рак (ВПХЦР) – агрессивная злокачественная опухоль с высокой летальностью и высоким риском рецидива заболевания после радикального хирургического лечения [Патютко Ю.И. с соавт., 2015; Waisberg D.R. et al., 2018; Rahnama-Azar A. et al., 2017].

В настоящее время единственным эффективным методом лечения ВПХЦР остается резекция печени, позволяющая добиться увеличения продолжительности жизни [Wang J.J et al., 2020; de Jong M.C. et al, 2011; Tsunematsu M. et al., 2019; Bartsch F. et al., 2020; Beal E.W. et al., 2020]. Однако отсутствие специфических патогномоничных признаков, длительное бессимптомное течение заболевания приводят к тому, что больные внутривеночной холангиокарциномой обращаются за медицинской помощью на поздних стадиях, когда выполнение хирургического вмешательства не представляется возможным ввиду местного распространения опухоли и наличия отдаленных метастазов. Только 25–30% больных с впервые выявленным ВПХЦР имеют резектабельные опухоли [Rizvi S. et al., 2018; Banales J.M. et al., 2020]. Кроме того, отдаленные результаты хирургического лечения, даже своевременно оперированных больных, остаются неудовлетворительными. Изучение базы SEER продемонстрировало тенденцию улучшения выживаемости после радикального хирургического лечения, тем не менее, 5-летняя выживаемость после резекции печени остается невысокой [Nathan H et al., 2007].

Актуальным также является вопрос адъювантной терапии, который ограничен применением фторпиримидинов, а при R1 резекции, которая часто встречается при хирургическом лечении ВПХЦР, проведением режимов терапии, по сути, первой линии [Banales J.M. et al., 2020; Krenzien F. et al., 2022; Бредер В.В. с соавт., 2017]. Тем не менее, в клинике встречаем пациентов с коротким безрецидивным периодом при R0 резекциях и длительным анамнезом при R1 резекциях, что, по-видимому, определяется биологическими особенностями

опухоли, и подчеркивает необходимость создания прогностических тест-систем при резектабельных формах ВПХЦР и разработки малоинвазивных подходов в мониторинговании развития рецидива заболевания.

Несмотря на большое количество исследований по изучению данной проблемы, до сих пор не определены основные факторы, обуславливающие агрессивное течение ВПХЦР. Наиболее изученные клиничко-морфологические факторы, такие как размеры опухоли, степень дифференцировки опухоли, стадия опухолевого процесса, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, микро- и макрососудистая инвазия в полной мере не позволяют прогнозировать течение опухолевого процесса достаточно эффективно. У части пациентов, даже после удаления опухоли в пределах здоровых тканей (R0), достаточно быстро возникает рецидив заболевания, а другие пациенты после резекции печени R1 и с метастазами в лимфатических узлах живут более 2–3 лет. В связи с этим, важным является изучение молекулярно-генетических факторов, лежащих в основе патогенеза (канцерогенеза) данного заболевания и их влияние на результаты хирургического лечения. Изучение клиничко-морфологических факторов, влияющих на результаты хирургического лечения ВПХЦР в российской популяции, представлено в литературе крайне скудно, а влияние на прогноз различных молекулярно-генетических нарушений, обуславливающих биологические особенности опухолевого процесса, не представлено.

Целью данного исследования является улучшение результатов лечения ВПХЦР за счет применения персонализированного подхода, основанного на прогнозировании течения болезни с учетом клиничко-морфологических и молекулярно-генетических факторов.

Задачи исследования:

1. Оценить отдаленные результаты (общая и безрецидивная выживаемость) комбинированного (хирургическое и адьювантное противоопухолевое) лечения ВПХЦР.

2. Оценить влияние различных клинико-морфологических факторов на общую и безрецидивную выживаемость пациентов ВПХЦР после проведенного комбинированного лечения.

3. Оценить влияние объема удаляемой паренхимы печени при ВПХЦР на непосредственные результаты хирургического и отдаленные результаты комбинированного лечения и определить основополагающий фактор, определяющий объем оперативного вмешательства (резекции паренхимы печени).

4. Провести молекулярно-генетическое исследование опухоли после проведенного хирургического лечения и выявить спектр и частоту мутаций в генах *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *TP53*, *IDH1/2*, *MET*, *PIK3CA*, *ERBB2* при ВПХЦР.

5. Выявить генетические маркеры (мутации), ассоциированные с прогнозом, — маркеры благоприятного и неблагоприятного прогноза после хирургического лечения при ВПХЦР.

6. Оценить диагностическую ценность белка TGF- β (трансформирующий фактор роста) в качестве маркера рецидива ВПХЦР.

7. Разработать прогностическую шкалу оценки выживаемости больных ВПХЦР в периоперационном периоде в зависимости от клинико-морфологических и молекулярно-генетических факторов.

Научная новизна исследования. Исследование является первой обобщающей работой по целенаправленному изучению ВПХЦР после хирургического лечения и молекулярно-генетического профилирования опухоли, в рамках которой:

впервые в России проведена оценка корреляции отдаленных результатов комбинированного лечения – общей и безрецидивной выживаемости пациентов после проведенного хирургического лечения по поводу ВПХЦР с результатами молекулярно-генетического профилирования опухолей.

Впервые в российской популяции изучено положение о том, что наличие определенных мутаций, выявленных в результате генетического исследования, ассоциировано с исходом комбинированного лечения (отдаленные результаты) и

прогнозом у пациентов с ВПХЦР, т. е. определены генетические маркеры (мутации) благоприятного и неблагоприятного прогноза.

Систематизация и анализ полученных данных в результате молекулярно-генетического профилирования опухоли расширили понимание патогенеза ВПХЦР в российской популяции.

Впервые в России оценена чувствительность белка TGF- β (трансформирующий фактор роста), определяемого в плазме крови в качестве маркера рецидива (метастазирования) ВПХЦР после хирургического лечения.

Впервые создана прогностическая шкала, позволяющая с высокой точностью оценить общую выживаемость пациентов после проведенного хирургического лечения.

Теоретическая и практическая значимость. В основе методов решения поставленных задач лежит молекулярно-генетическое исследование опухоли после хирургического лечения с целью выявления определенных генетических нарушений.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты позволяют получить научную базу, что существенно расширяет представление о холангиокарциногенезе.

Подтверждена выраженная гетерогенность ВПХЦР по мутационному статусу. Мутации в генах *IDH1/2* в российской популяции были ассоциированы с более благоприятным прогнозом, в то же время пациенты с выявленными мутациями в гене *MET* входили в группу риска в плане раннего рецидива заболевания и неблагоприятного прогноза; мутации в гене *KRAS* не оказали негативного влияния на прогноз.

Полученные результаты подтверждают положения о том, что наличие определенных мутаций, выявленных в результате молекулярно-генетического исследования, ассоциировано с исходом хирургического лечения (отдаленные результаты) и прогнозом пациентов с ВПХЦР. Кроме того, анализ полученных результатов позволяет определить потенциальную эффективность

экспериментальной терапии и подобрать наиболее подходящие клинические исследования.

Выявление специфических для данного заболевания мутаций имеет важное значение в практическом здравоохранении, а именно позволяет выявить потенциальные мишени для таргетной терапии при прогрессировании заболевания, проводить контроль эффективности хирургического лечения, прогнозировать риск рецидива опухоли.

Наличие мутации в опухоли в гене *MET* требует более активного динамического наблюдения в послеоперационном периоде. Данной когорте пациентов следует проводить исследования по интенсификации адъювантного лечения.

Состояние гена *KRAS* не оказывает значимого влияния на прогноз. Мутация в гене *KRAS* не ассоциирована с негативным влиянием на общую и безрецидивную выживаемость больных после проведенного хирургического лечения. Это аспект требует дальнейшего изучения.

Учитывая высокий потенциал злокачественности ВПХЦР и высокий риск рецидива после хирургического вмешательства, учет мутационного статуса опухоли позволяет предположить возможную модернизацию существующей тактики ведения пациентов с данным заболеванием в послеоперационном периоде после дополнительных проспективных исследований. Эти результаты способствуют улучшению исходов лечения данного онкологического заболевания.

Разработана математическая модель (прогностическая шкала) прогнозирования риска рецидива и прогрессирования ВПХЦР после хирургического лечения.

Положения, выносимые на защиту:

1. Клинико-морфологическими предикторами общей и безрецидивной выживаемости после хирургического лечения ($p < 0,05$) являются состояние края резекции, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, инвазия в капсулу печени, периневральная инвазия, а не размер опухоли, степень

дифференцировки опухоли и наличие микрососудистой инвазии, что диктует необходимость агрессивного хирургического подхода, направленного на достижение R0-резекции с лимфаденэктомией.

2. В отношении мутационного статуса ВПХЦР в российской популяции отличается выраженной гетерогенностью. Спектр и частота изученных мутаций представлены следующим образом: *KRAS* — 27%, *IDH1/2* — 25%, *MET* — 12%, *NRAS* — 10%, *PIK3CA* — 10%, *BRAF600* — 7%, *ERBB2* — 7%, *EGRF* — 2%.

3. При оценке взаимосвязи гена *KRAS* и клинико-демографических показателей, выявлена взаимосвязь пола с частотой выявления мутации гена *KRAS* при ВПХЦР. В нашем исследовании мутантный ген выявлялся исключительно у женщин. Исходя из этого можно предположить различные пути канцерогенеза ВПХЦР у женщин и мужчин в Российской Федерации. Этот аспект требует дальнейшего изучения.

4. Состояние статуса гена *KRAS* при ВПХЦР в российской популяции не несет прогностического значения. С другой стороны, он может рассматриваться в некоторых случаях как предиктивный маркер эффективности лечения и ассоциирован с возможной устойчивостью к ингибиторам рецепторных тирозинкиназ.

5. В российской популяции негативная ассоциация между мутацией в гене *KRAS* и клиническими исходами не определяется.

6. Определение мутационного статуса генов *IDH1/2* имеет важное прогностическое и предиктивное значение. С одной стороны мутация в генах *IDH1/2* является маркером более благоприятного течения опухолевого процесса, с другой стороны больные с данными мутациями могут быть кандидатами для подбора таргетных препаратов (ингибиторы *IDH*) и включения их в клинические исследования.

7. Мутация гена *MET* в опухоли является признаком неблагоприятного прогноза в отношении общей выживаемости, что требует более активного динамического наблюдения больных с данной альтерацией после хирургического лечения.

8. При прогнозировании отдаленного исхода операции по поводу ВПХЦР, кроме клинико-морфологических критериев (состояние статуса R, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, инвазия в капсулу печени, периневральная инвазия), не менее важное значение имеет определение молекулярно-генетического профиля опухоли.

Внедрение результатов исследования в практику. Основные результаты диссертационной работы внедрены в практику онкологического отделения хирургических методов лечения ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, а также включены в программу обучения ординаторов и аспирантов ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России и кафедры неотложной и общей хирургии им. А.С. Ермолова ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на: I Всероссийской мультимедийной конференции «Медицина высоких технологий». Комбинированная терапия злокачественных опухолей печени 17 ноября 2020 г., г. Москва, Россия; II Всероссийской мультимедийной конференции «Медицина высоких технологий». Комбинированное лечение билиарного рака и секция по криотехнологиям в медицине «Управляя холодом» 9 июня 2021 г., г. Москва; Заседании Московского эндоскопического общества №167 21 апреля 2021 г., г. Москва, Россия; XXVIII Международном Конгрессе Ассоциации гепатобилиарных хирургов. Актуальные проблемы гепатобилиарной хирургии 23-24 сентября 2021г, г. Ростов-на-Дону, Россия; 5th International Congress of Living Donor liver Transplantation Group and 21st Postgraduate Course of the VHBPS, 15-16 October 2021, Brussels, Belgium; Международной конференции «Актуальные вопросы гастроэнтерологии. Канцерпревенция», 21-22 мая 2021 г., г. Нур-Султан, Казахстан; VII Конгрессе хирургов Казахстана с Международным участием «Хирургия: вчера, сегодня, завтра» 30 сентября – 1 октября 2021, г. Алматы, Казахстан; Межрегиональной научно-практической конференции

«Комбинированное лечение солидных опухолей. Холангиоцеллюлярная карцинома и не только» 13 мая 2022 г., г. Нижний Новгород, Россия; Международной научно-практической конференции «Регенеративная медицина: интеграция хирургии и морфологии» 27 мая 2022 г., г. Воронеж, Россия.

Апробация диссертационной работы успешно прошла на заседании проблемной комиссии 30 марта 2022 года в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По теме диссертационной работы опубликовано 19 научных работ, из них 14 в изданиях из перечня ВАК и SCOPUS (зарубежные издания), 1 патент на изобретение, 1 монография.

Диссертация изложена на 223 страницах машинописного текста, включает 6 глав, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы, приложения. Работа содержит 23 таблицы, иллюстрирована 57 рисунками.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования

I этап – ретроспективный анализ медицинской документации для оценки непосредственных и отдаленных результатов комбинированного лечения 79 пациентов ВПХЦР, обследованных и пролеченных в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского.

1.1 Оценка клинических данных до и после оперативного вмешательства: изучение лабораторно-инструментальных и морфологических методов исследований (развернутый общий анализ крови, биохимический анализ крови, определение онкомаркеров, ультразвуковое исследование, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, эндоскопические исследования, гистологическое исследование);

1.2 Анализ непосредственных результатов хирургического лечения ВПХЦР;

1.3 Анализ отдаленных исходов хирургического лечения ВПХЦР – общая и безрецидивная выживаемость после хирургического лечения.

II этап – изучение мутационного статуса ВПХЦР и его влияние на прогноз.

1. Иммуногистохимическое и генетическое исследования опухолевой ткани с целью выявления спектра и частоты мутаций в генах *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *TP53*, *IDH1/2*, *MET*, *MET*, *PIK3CA*, *ERBB2* при ВПХЦР методом ПЦР и NGS (41 пациент);

2. Распределение пациентов на группы в зависимости от выявленных мутаций (маркеры благоприятного и неблагоприятного прогноза) и оценка их влияния (корреляция) на отдаленные результаты хирургического лечения;

3. Разработка прогностической шкалы для оценки выживаемости пациентов после выполненного хирургического лечения с учетом клинико-морфологических и молекулярно-генетических факторов.

III этап — проспективное исследование

Определение белка TGF- β в сыворотке крови как поисковое исследование у больных в количестве 31 человек, перенесших хирургическое лечение и оценка его диагностической ценности как маркера рецидива (метастазирования) заболевания.

Характеристика групп обследованных пациентов

На 1 этапе с целью оценки непосредственных и отдаленных результатов комбинированного (хирургическое, лекарственное, локорегионарное) лечения в исследование включены 79 пациентов, находившихся на обследовании и лечении в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского с установленным морфологически диагнозом внутривнутрипеченочный холангиоцеллюлярный рак с 2011 по 2021 гг. Из них 67 пациентам выполнены резекции печени с последующей адьювантной химиотерапией. Остальным 12 пациентам с нерезектабельными опухолями выполнены различные локорегионарные методы воздействия и системная химиотерапия. Соотношение мужчин и женщин составило 24 (30%) и 55 (70%)

соответственно. Возраст больных варьировал от 36 до 82 лет (средний возраст – 60,3 года).

Общая характеристика пациентов представлена в Таблице 1.

Таблица — 1 Общая характеристика пациентов в зависимости от различных клинических параметров

Клинические параметры	Частота
Локализация опухоли (n=79)	
Билобарное поражение	19 (24%)
Правая доля	32 (40%)
Левая доля	28(36%)
Билиарная декомпрессия до операции (n=79)	
Билиарная декомпрессия до операции проводилась	9 (11,4%)
Билиарная декомпрессия до операции не проводилась	70(88,6%)
Повышение онкомаркера СА 19-9(n=79)	
Повышение онкомаркера СА 19-9	30 (37,9%)
Повышение онкомаркера СА 19-9 был в норме	38 (48,1%)
Нет данных по содержанию онкомаркера СА 19-9	11 (13,9%)
Типы резекции печени (n=67)	
Бисегментэктомия	10 (14,9%)
Резекция трех сегментов	10 (14,9%)
Стандартная гемигепатэктомия	25 (37,3%)
Расширенная гемигепатэктомия	22(32,8%)
Степень радикальности операции (n=67)	
R0 (удаление опухоли в пределах здоровых тканей)	24(36%)
R1 (удаление опухоли по ее краю)	26 (39%)
R2 (опухоль удалена не полностью)	3 (4,5%)
Нет данных о состоянии края резекции	14(21%)

Критериями исключения из исследования расценивались отсутствие гистологического препарата (стекла и блоки) для полноценной морфологической оценки опухоли, наличие комбинированного гепатохолангиоцеллюлярного рака, первично-множественного рака и отказ больного от предложенного лечения.

Характеристика больных в зависимости от выполненных оперативных вмешательств

Из всех обследованных 79 больных 67 (84,8%) подверглись оперативному лечению в различном объеме. В зависимости от вида резекции печени пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили пациенты, которым выполнены «истинно» анатомические резекции печени. В данную группу вошли 47 больных (70,1%), которым выполнены большие и предельно большие резекции печени с предварительной перевязкой сосудисто-секреторной ножки до резекционного этапа. Из них 22 пациентам (46%) выполнена расширенная гемигепатэктомия. У 25 пациентов (53%) была произведена стандартная гемигепатэктомия. Необходимо отметить, что у 13 (19,4%) больных этой группы резекцию печени сочетали с резекцией внепеченочных желчных протоков и реконструктивным билиодигестивным анастомозом.

Вторую группу составили больные в количестве 20 человек (29,9%), которым выполнены так называемые анатомические сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук-направленного подхода. В эту группу вошли больные, которым выполнена резекция двух и трех сегментов печени. Независимо от вида резекции печени всем больным проводилась лимфаденэктомия в объеме D2.

Определяющими факторами в выборе объема резекции печени были локализация и отношение опухоли к магистральным сосудам. Так, «истинно» анатомические резекции печени были выполнены, как правило, при локализации опухоли в центральной части печени (4,8 сегментов печени), вовлечении в опухолевый процесс сосудисто-секреторной ножки на уровне бифуркации на секторальные ветви, вовлечении ствола одной из печеночных вен. При отсутствии вовлечения в опухолевый процесс бифуркации и долевого сосудисто-секреторных элементов выполняли анатомические сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук-направленного подхода. При выборе варианта резекции

печени мы ориентировались на Брисбейнскую классификацию операций (2000 г.), основанную на сегментарной анатомии печени.

Обе группы были сопоставимы по стадиям опухолевого процесса, соматическому статусу и сопутствующим заболеваниям. Для оценки непосредственных результатов операции послеоперационные осложнения были стратифицированы по классификации Clavien-Dindo. Кроме того, оценивали продолжительность операции, объем кровопотери во время операции, продолжительность пребывания больного в стационаре.

Противопоказаниями к выполнению резекции печени при ВПХЦР считали наличие метастазов (отсевов) в контралатеральной доле (билобарное поражение), наличие опухолевого конгломерата в гепатодуоденальной связке, наличие метастазов в паракавальных, парааортальных, чревных, брыжеечных лимфатических узлах, канцероматоза брюшины.

Практически во всех случаях после мобилизации печени проводилось интраоперационное УЗИ, которое позволило окончательно определить распространённость опухолевого процесса, а также наметить проекцию магистральных сосудов и границу предполагаемой плоскости резекции печени.

Как было сказано ранее «истинно» анатомические резекции печени выполнено 47 больным, стандартная правосторонняя гемигепатэктомия - 10 больным (15%), расширенная правосторонняя гемигепатэктомия - в 10 случаях (15%), расширенная правосторонняя гемигепатэктомия в сочетании с резекцией внепеченочных желчных протоков - 3 больным (6%). Стандартная левосторонняя гемигепатэктомия произведена в 8 случаях (12%), стандартная левосторонняя гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков - 7 больным (14%), расширенная левосторонняя гемигепатэктомия - 9 больным (13,4%).

Показанием к выполнению стандартной правосторонней гемигепатэктомии (стПГГЭ) являлась локализация опухоли в одном из сегментов правой доли печени (5,6,7,8) с вовлечением в опухолевый процесс хотя бы одного из элементов правой сосудисто-секреторной ножки и/или правой печеночной вены при отсутствии распространения опухоли или опухолевых отсеков в

контралатеральной доле. Важным является то обстоятельство, что при локализации опухоли в правой доле печени, регионарными являются лимфатические узлы гепатодуоденальной связки, чревного ствола. Исходя из этого, при выполнении правосторонней гемигепатэктомии по поводу ВПХЦР должны быть удалены лимфатические узлы № 7 и 12.

Показанием к выполнению расширенной правосторонней гемигепатэктомии (рПГГЭ) явилось распространение холангиоцеллюлярного рака правой доли печени на IV сегмент, или, наоборот, опухоль IV сегмента с распространением на элементы правой сосудисто-секреторной ножки. При распространении опухоли на правый и общий печеночный проток рПГГЭ дополнялась резекцией внепеченочных желчных протоков с билиодигестивным анастомозом.

Показанием к выполнению стандартной левосторонней гемигепатэктомии (ст.ЛГГЭ) явилась локализация опухоли в левой доле печени, как правило, в IV сегменте (изолированная сегментэктомия IV при внутрипеченочном холангиоцеллюлярном раке практически не выполняется) или поражение II и/или III сегмента с распространением на IV сегмент с волочением в опухолевый процесс левой печеночной вены и/или левой ветви воротной вены. При распространении опухоли на 5 и 8 сегменты печени выполнялась расширенная левосторонняя гемигепатэктомия (рЛГГЭ). При обструкции внепеченочных желчных протоков, резекция печени сочеталась с резекцией внепеченочных желчных протоков.

Сегменториентированные резекции печени с применением ультразвуконаправленного подхода выполнены 20 пациентам. Если при «истинно» анатомических резекциях печени трансекция паренхимы выполнялось по линии демаркации после предварительной перевязки в воротах печени сосудисто-секреторных элементов, то при выполнении сегменториентированных резекций печени ведущую роль при определении плоскости резекции печени, а также проекции трубчатых структур играло интраоперационное ультразвуковое исследование.

При ВПХЦР изолированное удаление одного сегмента мы не выполняли. В большинстве случаев выполнялась резекция двух-трех смежных сегментов печени. При этом показаниями к сегментоориентированным резекциям печени при ВПХЦР считали опухоли без вовлечения конfluence секторальных сосудисто-секреторных элементов. Так, резекция 4,5,6 сегментов печени произведена в 6 случаях (9%), бисегментэктомия S5,6 — в 7 случаях (10,4%) (технические особенности этих операций мало отличаются от резекции 4,5,6 сегментов печени), резекция 6,7 сегментов печени - в 5 случаях (7,5%), бисегментэктомия S2,3 - в 2 случаях (3%).

Пациенты 1 группы были выписаны из стационара в сроки от 10 до 52 суток; средняя длительность пребывания в стационаре составила – 24 дня. Средняя длительность пребывания в стационаре больных 2 группы составила 16 дней (от 8 до 27 суток). В дальнейшем больные обеих групп направлялись к онкологу-химиотерапевту для решения вопроса химиотерапии. Отдаленный период удалось отследить у 39 больных (83%) 1 группы и 18 больных (90%) 2 группы; сроки наблюдения составили 13–106 месяцев и 17–68 месяцев соответственно.

В зависимости от стадии опухолевого процесса (UICC, 8 редакция, 2017г, приложение 4) оперированные больные были распределены следующим образом:

1 группа («истинно» анатомические резекции печени) в количестве 47 пациентов: Ia стадия выявлена у 1 (2,1%) пациента, Ib стадия — у 5(10,6%), II стадия — у 16(34,0%), IIIa стадия — у 14(29,7%), IIIb — у 9(19,1%) пациентов, у 2(4,2%) больных диагностирована IV стадия;

2 группа в количестве 20 пациентов (сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук-направленного подхода): Ia стадия выявлена у 2 (10%) пациента, Ib стадия — у 10(50%), II стадия — у 4(20%), IIIa стадия — у 1(5%), IIIb- у 2(10%) пациентов, у 1(5%) больных диагностирована IV стадия.

12 пациентам (15,2%) из 79 резекционные вмешательства не выполнялись в связи с местным распространением опухоли или тяжести состояния больных. Для лечения этих пациентов применялись различные методы локорегионарной и

системной терапии. Из них 2 пациентам (16,6%) была выполнена трансартериальная химиоэмболизация (ТАХЭ), 2-м (16,6%) – радиочастотная абляция (РЧА), 1 пациенту (8,3%) – ТАХЭ в сочетании с криодеструкцией опухоли, 1 пациенту (8,3%) РЧА в сочетании с криоабляцией, у 6 пациентов (50%) была выполнена биопсия опухоли для верификации диагноза и последующей химиотерапии. Характеристика больных в зависимости от выполненных хирургических вмешательств представлена в Таблице 2.

Таблица 2 — Характеристика больных в зависимости от выполненных хирургических вмешательств

Резекционные вмешательства (n=67)		
1 группа (n = 47 (70,1%) - «истинно» анатомические резекции печени	Расширенная гемигепатэктомия	14 (20,9%)
	Стандартная гемигепатэктомия	20 (29,9)
	Расширенная гемигепатэктомия + резекция гепатикохоледоха	8 (14,9%)
	Стандартная гемигепатэктомия + резекция гепатикохоледоха	5 (7,4%)
2 группа (n = 20 (29,9%) - сегменториентированные резекции с применением ультразвук-направленного подхода	Бисегментэктомия	10 (14,9%)
	Резекция трех сегментов	10 (14,9%)
Паллиативные вмешательства (n=1)		
ТАХЭ	2 (16,6%)	
ТАХЭ+криоабляция	1 (8,3%)	
РЧА	2 (16,6)	
РЧА+криоабляция	1 (8,3%)	
Биопсия опухоли для верификации диагноза + системная ХТ	6 (50%)	

Характеристика больных в зависимости от химиотерапии

Неoadьювантная химиотерапия не проводилась. Адьювантная полихимиотерапия (АПХТ) проводилась 38 больным (81%) 1 группы (1 больному АПХТ не проводилась по причине отказа больного) и 12 больным (60%) 2 группы в период с 2014 по 2021 г. Данные о химиотерапии больных до 2014 года не удалось оценить. АПХТ при ВПХЦР после хирургического лечения назначалась всем больным независимо от статуса R с учетом ECOG . Схему АПХТ назначал онколог-химиотерапевт НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского или другого

лечебного учреждения. АПХТ проводилась сочетанием препаратов платинового (цисплатин, оксалиплатин) и пиримидинового (гемцитабин, капецитабин) ряда, как правило, в режиме GEMOX (GEMCIS).

В случае выявления прогрессирования, по данным контрольного обследования перед началом химиотерапии, было рекомендовано проведение ПХТ 1-й линии по схеме GEMOX или GEMCIS. По показаниям была возможна редукция доз химиопрепаратов на 15%. Контрольное обследование для оценки эффекта терапии проводилось через 3 мес. от начала химиотерапии.

После получения результатов молекулярно-генетического исследования на фоне второй линии АПХТ проводилась коррекция схемы лекарственной терапии. Молекулярное генетическое исследование включало обязательное определение следующих молекулярно-генетических нарушений: мутации в генах *FGFR*, *IDH1/2*, *BRAF*, *BRCA1/2*, *KRAS*, *NRAS*, *MET*, *PIK3CA*, *EGFR* экспрессию и амплификацию *Her2*, а также микросателлитной нестабильности (*MSI*).

Молекулярно-генетическое исследование (II этап исследования)

Для оценки мутационного статуса опухоли выполнено молекулярно-генетическое исследование образцов опухолевой ткани (41 образец) из удаленного макропрепарата с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в соответствии с протоколами использованных коммерческих наборов на приборе. Исследовались образцы ткани ВПХЦР из удаленного послеоперационного материала, фиксированного в формалине и заключенного в парафин.

Выделение ДНК из опухолевой ткани проводили с использованием набора DNA Sample Preparation kit (Roche, Германия). Мутации 2-го экзона (кодоны 12 и 13) гена *KRAS* определяли при помощи набора реактивов Real-time-PCR-KRAS-7M (БиоЛинк, Россия) на амплификаторе real-time CFX96 (Bio-rad, США). Анализ мутаций гена *EGFR* выполняли на ПЦР-анализаторе Cobas z480 LightCycler® (Roche, Германия) с использованием набора реактивов cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche, Германия). Анализ мутации генов *KRAS* (ex.3-4), *NRAS* (ex.2-4), *BRAF*

(ex.15), *PIK3CA* (ex.9-10, 20-21), *MET* (ex.14), *IDH I* (ex.4), *IDH II* (ex.4) провели с помощью ПЦР и последующего капиллярного электрофореза на приборе Applied Biosystems™ 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США). Амплификацию интересующих фрагментов ДНК выполняли на амплификаторе Терцик (ДНК-Технология, Россия). ПЦР-смесь: 9мкл ddH₂O, 5 мкл 5x ПЦР буфера, 2,5 мкл 25мМ MgCl₂, 2,5мкл 25 мМ dNTP Mix, 1,5 мкл (10 пкмоль/мкл) каждого праймера, 0,3 мкл (5 е.а.) Taq-полимераза и 3 мкл ДНК. Условия ПЦР: 95°C в течение 5 мин, 94°C – 30 с, 60°C – 30 с, 72°C – 40 с (35 циклов), 72°C – 5 мин.

Молекулярно-генетический анализ проводился в ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России (директор - д.м.н., проф. Никитин И.Г.).

В нашей работе проведено исследование по изучению спектра и частота мутаций в генах *KRAS*, *IDH1/2*, *NRAS*, *PIK3CA*, *MET*, *BRAF600*, *EGRF*, *ERBB2*, *TP 53* при ВПХЦР, а также изучено их влияние на общую и безрецидивную выживаемость после хирургического лечения у пациентов российской популяции. Из 67 оперированных пациентов материал для молекулярно-генетического исследования был пригоден у 41 пациента.

Определение уровня TGF beta1 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (III этап исследования)

На III этапе выполнена оценка диагностической ценности трансформирующего фактора роста (TGF beta1) как маркера рецидива (метастазирования) внутрипеченочной холангиокарциномы после хирургического лечения. Для этого исследовалась сыворотка крови 31 больного с рецидивом и/или прогрессированием ВПХЦР после выполненного хирургического вмешательства. Выполнено количественное определение TGF beta1 методом иммуноферментного анализа (Human TGF beta1 ELISA Kit – иммуноферментный набор для количественного определения TGF- beta человека. Кат.№ BMS249/4, Нидерланды. ЗАО «БиоХимМак», Москва). Полученные результаты

сравниваются с данными TGF beta1, определенными в панели случайным образом отобранных образцов сыворотки здоровых доноров (мужчины и женщины). При этом за референсное значение принято содержание TGF beta1 в диапазоне 5222-13731 пг/мл.

Статистическая обработка полученных данных

Для статистических расчетов использовали программное обеспечение «IBM SPSS Statistics версия 26.0».

При соответствии переменных нормальному закону распределения Гаусса для сравнения двух непрерывных переменных использовался непарный t – тест (тест Стьюдента), если переменные были независимыми, и парный t-тест, если переменные были зависимые. Достоверность различий между количественными показателями независимых групп оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Для сравнения качественных параметров применялся точный критерий Фишера или критерий χ^2 . Функция выживания оценивалась с помощью метода Каплана-Мейера. Выживаемость пациентов в различных подгруппах сравнивалась с использованием логарифмического рангового критерия (log-rank теста). Для определения факторов, влияющих на выживаемость пациентов, использовалась однофакторная и многофакторная модели пропорциональных рисков Кокса. Критическое значение уровня статистической достоверности нулевой гипотезы принимали равным 0,05. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты молекулярно-генетического исследования

Мутационный статус опухоли 41 обследованных пациентов, согласно проведенному молекулярно-генетическому анализу, представлен следующим образом: мутация гена *KRAS* – 27% (n= 11), *IDH1/2* – 25% (n=10), *MET* - 12%

(n=5), *NRAS*- 10% (n=4), *PIK3CA* - 10% (n=4), *BRAF600* - 7%(n=3), *ERBB2*- 7% (n=3), *EGRF*-2% (n=1) (Рисунок 1).

Согласно мутационному анализу наиболее частыми мутациями при ВПХЦР были мутации генов *DH1/2*, *KRAS* и *MET* с частотой n=10(25%), n=11(27%), n=5(12%) соответственно.

Все выявленные мутации *IDH1* были обнаружены в 132 кодоне 4-ого экзона гена. Мутация гена *IDH1* наблюдалась чаще (60%), чем *IDH2*-мутация (40%). При этом в 5 случаях она была выявлена в виде одиночной мутации, в остальных случаях - сочеталась с мутациями других генов: в двух случаях с мутацией гена *MET*, в остальных - с мутацией генов *KRAS* и *BRAF*.

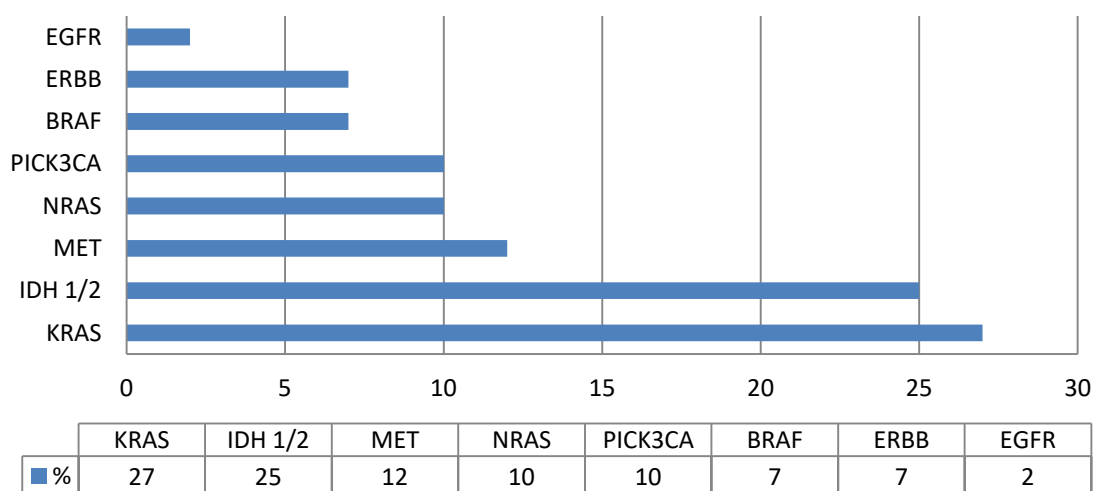


Рисунок 1 — Распространенность мутаций генов при внутриспеченочной холангиокарциноме

Обращает на себя внимание, что мутация гена *KRAS* была выявлена только у лиц женского пола. При анализе мутационного статуса мутация гена *KRAS* в одном локусе (13 кодон 2 экзона) встречалась только в одном случае, во всех остальных случаях наблюдались сочетанные мутации в нескольких локусах: в 6 случаях в 12 кодоне 2 экзона, в 3 - в 13 кодоне 2 экзона, в 3 – в 61 кодоне 3 экзона: в 1 - в 112 кодоне 4 экзона, в 2 - в 117 кодоне 4 экзона, в 4 – в 146 кодоне 4 экзона. Кроме того, в 4 случаях (44%) мутация в гене *KRAS* сочеталась с другими мутациями (в 1 случае с мутациями в генах: *PIK3CA* - экзон 9,20,21, *IDH1/IDH2* –

экзон 4; в 1 - *PIK3CA* - экзон 9, экзон 20, *IDH1*-экзон 4; в остальных 2 случаях с мутациями генов *PIK3CA*- экзон 10 и *NRAS*-экзон 4).

Результат исследования содержания TGF beta1 в сыворотке крови больных с рецидивом ВПХЦР

Содержание TGF beta1 было изучено в сыворотке крови 31 пациента с рецидивом и прогрессированием ВПХЦР после хирургического лечения методом иммуноферментного анализа.

Полученные результаты сравнили с данными TGF beta1, определенными в случайным образом отобранных образцах сыворотки здоровых доноров (мужчины и женщины) (20 человек). При этом за референсное значение принято содержание TGF beta1 в диапазоне 5222-13731 пг/мл. Сравнение уровня TGFbeta-1 в группе рецидива ВПХЦР и группе контроля с помощью критерия Манна-Уитни свидетельствует о достоверной разнице уровня TGFbeta-1 (рисунок 2).

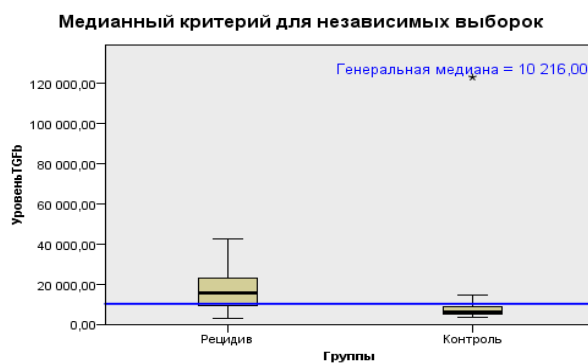


Рисунок 2 — TGFbeta-1 в группе рецидива ВПХЦР и группе контроля

Повышение уровня TGF beta-1 отмечалось у 63% пациентов с рецидивом ВПХЦР.

Послеоперационные осложнения и летальность

Все возникшие осложнения условно были разделены на специфические, связанные с резекцией паренхимы печени (пострезекционная печеночная

недостаточность, желчные свищи, скопление желчи (билома) в подпеченочном пространстве, коагулопатия, полиорганная недостаточность) и общие хирургические (гнойно-септические, тромбозмболические, бронхолегочные осложнения, эвентрация, кровотечения из острых язв ДПК, острый панкреатит и др.).

В группе «истинно» анатомических резекций печени (1 группа) специфические осложнения развились в 17(36%) случаях, в то время как среди больных из группы сегменториентированных резекций печени (2 группа) специфические осложнения встречались в 2 (10%) случаях.

Типичными пострезекционными осложнениями были печеночная недостаточность, кровотечения из культи печени, биломы с абсцедированием или без, скопление крови в зоне резекции печени. При этом наиболее серьезным осложнением являлись послеоперационная печеночная недостаточность, которая развилась у 7 (14,8%) пациентов из группы больших резекций печени. Основными проявлениями данного осложнения являлись повышение активности трансаминаз, щелочной фосфатазы, гипокоагуляция, гипопротеинемия. Клинически значимая печеночная недостаточность у пациентов из группы малых резекций печени не наблюдалась. В 6 случаях из 7, печеночная недостаточность разрешилась на фоне консервативных мероприятий. У одной пациентки на фоне прогрессирования печеночной недостаточности развилась полиорганная недостаточность, что явилось причиной смерти больной.

При анализе осложнений, связанных с резекцией печени, особое место занимает интраоперационное кровотечение, которое развивается в той или иной степени практически у всех больных. Однако гемодинамически значимые кровотечения развились у 4(8,5%) больных. Все эти больные были из группы больших резекций печени. У всех этих больных выполнение адекватных интраоперационных консервативных мероприятий, в том числе, и возврат крови в сосудистое русло с применением аппарата Cell Saver позволило избежать грозных осложнений, в том числе и ДВС-синдрома. Переливание эритроцитарной массы проводилось 6(12,7%) пациентам из группы больших резекций печени.

В таблице 3 показана сравнительная характеристика двух групп пациентов в отношении послеоперационных осложнений согласно классификации хирургических осложнений по Clavien-Dindo. По результатам полученных данных, наиболее грозные осложнения встречались в группе больших резекций печени.

Таблица 3 — Ранние послеоперационные осложнения по Clavien-Dindo в зависимости от объема резекции печени

Осложнения	Анатомические резекции печени (n= 47)		Сегменториентированные резекции печени (n=20)		P
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Степень I					
Нагноение послеоперационной раны	5	10,6	1	5	0,46
Лимфорейя	3	6,3	-	-	-
Трахеобронхит	1	2,1	2	10	0,154
Степень II					
Гипопротеинемия	6	12,7	1	5	0,342
Желчеистечение (желчный свищ по дренажу (из среза печени)	3	6,3	1	5	0,827
Малый гидроторакс	28	59,5	4	20	0,04
Пневмония	5	10,6	1	5	0,46
Транзиторная печеночная недостаточность	4	8,5	-	-	-
Панкреатит (отечный)	1	2,1	1	5	0,28
Несостоятельность гепатикоюноанастомоза	3	6,3	1	5	0,032
Степень IIIa					
Большой гидроторакс	19	40,4	-	-	-
Гематома в зоне резекции печени, подпеченочном пространстве	3	6,3	1	5	0,827
Скопление желчи (билома) подпеченочного пространства	1	2,12	1	5	0,857
Поддиафрагмальный абсцесс	-	-	1	5	-
Подкожная эвентрация	2	4,2	-	-	-
Степень IIIb					
Кровотечение из острых язв ДПК	1	2,12	-	-	-
Флеботромбоз	-	-	1	5	-
Степень IVa					
Немассивная тромбоэмболия легочной артерии (мелких ветвей)	-	-	1	5	-
Печеночная недостаточность	2	4,2	-	-	-
Почечная недостаточность	4	8,5	-	-	-
Степень IVb					
Сепсис	1	2,12	-	-	-
Массивная тромбоэмболия легочной артерии	1	2,12	-	-	-

Осложнения	Анатомические резекции печени (n= 47)		Сегменториентированные резекции печени (n=20)		Р
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Печеночно-почечная недостаточность (гепаторенальный синдром)	1	2,12	-	-	-
Степень V					
Летальный исход	2	4,2	-	-	-

В раннем послеоперационном периоде умерло 2 больных (госпитальная летальность составила 3%). В одном случае причиной летального исхода явились прогрессирующая печеночно-почечная недостаточность, ТЭЛА. Во втором случае причиной летального исхода явились прогрессирующая печеночная недостаточность, гипокоагуляционное, аррозийное кровотечение и некроз печени с абсцедированием.

Отдаленные результаты в зависимости от клинко-морфологических факторов

Общая и безрецидивная выживаемость оперированных пациентов представлены на рисунке 42. Медиана выживаемости = 46 месяцев. 1-годичная выживаемость составила 79,8% (60,9–90,9), 3-летняя - 56,5% (35,5–79,6), 5-летняя - 39,0% (8,2–63,7)(рисунок 3). Безрецидивная выживаемость составила: 1-летняя - 68%, 3-х-летняя -16%, 5-летия — 9% (рисунок 4).

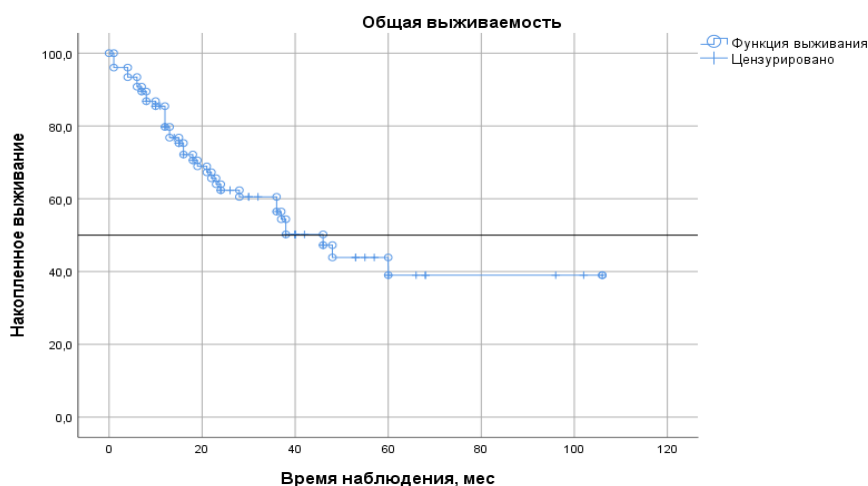


Рисунок 3 — Кривая кумулятивной общей выживаемости Каплана-Мейера для анализируемой группы после хирургического лечения

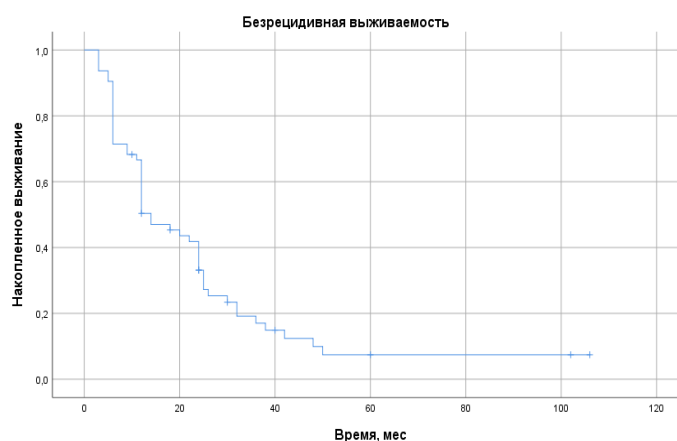


Рисунок 4 — Кривая кумулятивной безрецидивной выживаемости Каплана-Мейера для анализируемой группы после хирургического лечения

Проведен анализ влияния различных клинико-морфологических факторов (пол, возраст, инвазия в капсулу печени, периневральная и сосудистая инвазия, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, степень дифференцировки опухоли, размер опухоли, состояние края резекции, стадии процесса, уровень СА 19-9, объем кровопотери, химиотерапия, наличие мутации генов *IDH1/2*, *KRAS*, *BRAF*, *MET*) на общую выживаемость по результатам однофакторного и многофакторного анализов.

Однофакторный анализ влияния на общую выживаемость проводили методом Кокс-регрессии. Результаты количественных оценок коэффициентов однофакторного анализа Кокса приведены в таблице 4.

Для выявления наиболее значимых независимых факторов риска в рассматриваемой выборке пациентов выполнен многофакторный анализ.

Таблица 4 — Однофакторный анализ факторов, влияющих на общую выживаемость в отдаленном послеоперационном периоде

Фактор	Значимость (p)	ОР (95% ДИ)
Пол	0,046	1
М		0,49 (0,24-0,99)
Ж		1,037 (1,004-1,071)
Возраст	0,029	
Инвазия капсулы	0,039	
Да		1,039 (0,97-1,98)
Нет		1
Периневральная инвазия	0,046	
Да		1,015 (0,78-1,70)
Нет		1
Сосудистая инвазия	0,135	
Да		0,75 (0,52-1,09)
Нет		1
Наличие метастазов в регионарных лимфоузлах	0,062	
Да		1,45 (0,98-2,15)
Нет		1
Степень дифференцировки	0,994	
Высокая		1
Умеренная	0,913	1,12 (0,14-8,91)
Низкая	0,925	1,10 (0,15-8,32)
Размер опухоли	0,193	1,05 (0,97-1,14)
Состояние края резекции	0,001	
R0		1
R1	0,005	5,01 (1,64-15,30)
R2	0,001	11,43 (2,65-49,37)
Стадии процесса	0,004	
1		1
2	0,039	0,22 (0,05-0,93)
3	0,986	1,01 (0,37-2,72)
4	0,124	3,12 (0,73-13,31)
СА-19-9	0,254	
Да		1,49 (0,75-2,94)
Нет		1
Объем кровопотери	0,235	
<500мл		0,79 (0,54-1,16)
>500мл		1
Химиотерапия	<0,001	

Да Нет		1 2,50 (1,68-3,73)
Мутация IDH Да Нет	0,043	0,71 (0,53-0,96) 1
Мутация KRAS Да Нет	0,223	0,67 (0,35-1,28) 1
Мутация BRAF Да Нет	0,627	0,78 (0,28-2,14) 1
Мутация MET Да Нет	0,001	3,04 (1,55-5,98) 1

По результатам многофакторного анализа независимыми статистически значимыми факторами риска оказались: состояние края резекции ($p=0,031$), возраст ($p=0,006$), наличие метастазов в регионарных лимфоузлах ($p=0,003$), проведение химиотерапии ($p<0,001$), мутации генов *IDH1/2* ($p=0,043$) и *MET* ($p=0,001$), периневральная инвазия, инвазия в капсулу ($p=0,039$). Значения ОР приведены в таблице 5.

Таблица 5 — Многофакторный анализ факторов, влияющих на выживаемость в отдаленном послеоперационном периоде

Фактор	Значимость (p)	ОР (95% ДИ)
Состояние края резекции	0,031	
R0		1
R1	0,045	1,73 (1,11-2,69)
R2	0,011	3,01 (1,61-5,64)
Возраст	0,006	1,10 (1,03-1,18)
Наличие метастазов в регионарных лимфоузлах	0,003	
Да		9,43 (2,17-41,00)
Нет		1
Инвазия в капсулу печени		
Да	0,047	4,5 (2,7-5,12)
Нет		1
Периневральная инвазия	0,037	6,2 (5,78-8,2)
Да		1
Нет		
Химиотерапия	<0,001	
Да		1
Нет		12,83 (3,39-48,52)
Мутация <i>IDH</i>	0,037	0,76 (0,046-0,98)
Да		1
Нет		

Мутация <i>MET</i>	0,025	2,8 (1,2-4,36)
Да		1
Нет		

Ниже представлены графики выживаемости Каплана-Мейера для групп пациентов с «негативным» (R0) и «положительным» краем резекции (R1/R2) (рисунок 5). Сравнение выполнено для двух групп в зависимости от состояния края резекции: группа R0 против группы R1/R2 и группа R0 против группы R1 (без учета R2) (таблица 6).

Таблица 6 — Выживаемость пациентов с ВПХЦР в зависимости от радикальности операции

Общая выживаемость	1-летняя	3-летняя	5-летняя
R0, n=22	100,0%	90,2%	70,2%
R1, n=32	74,5%	44,5%	29,6%
R1/R2, n=38	70,3%	37,8%	25,2%

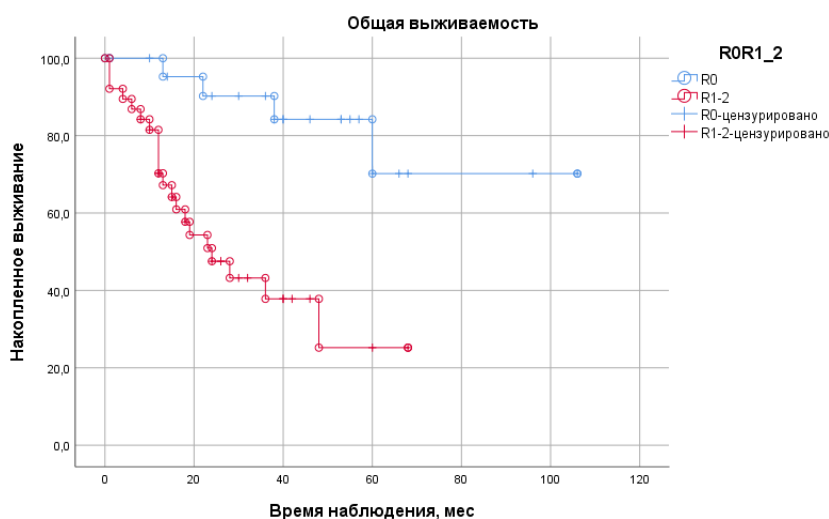


Рисунок 5 — Анализ выживаемости пациентов в зависимости от радикальности операции. R0 – удаление опухоли в пределах здоровых тканей;

R1 – микроскопические признаки опухолевых клеток в крае резекции;

R2 – макроскопические признаки опухолевых тканей в крае резекции

По данным Log Rank теста различия в общей выживаемости были статистически значимы ($p < 0,001$).

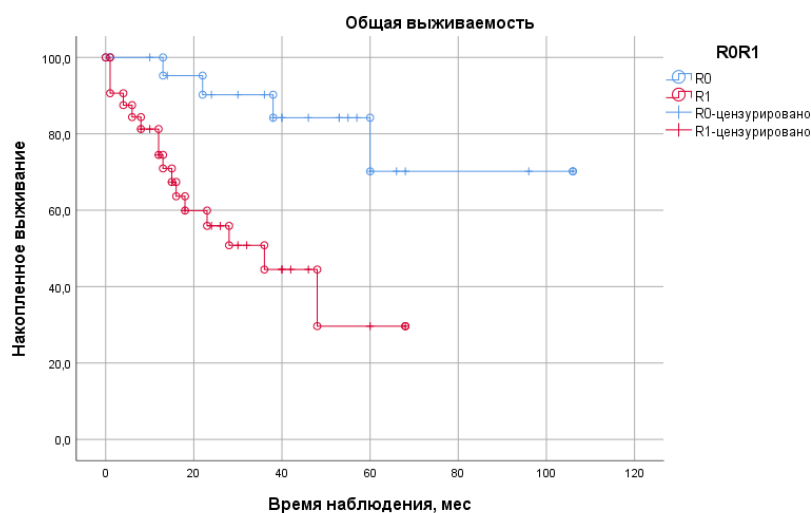


Рисунок 6 — Анализ выживаемости методом Каплана-Мейера пациентов в зависимости от радикальности операции. R0 – удаление опухоли в пределах здоровых тканей; R1 – микроскопические признаки опухолевых клеток в крае резекции

По данным log rank теста различия в общей выживаемости были статистически значимы ($p=0,002$) (рисунок 6).

Отдаленные результаты в зависимости от объема резекции печени

Было выполнено определение общей выживаемости двух групп в зависимости от объема операции по данным анализа дожития Каплан-Меера с критерием log-rank (рисунок 7).

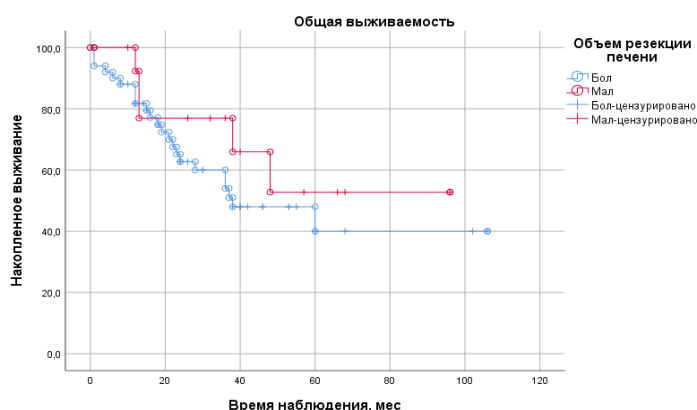


Рисунок 7 — Анализ общей выживаемости в группах больших «истинно» анатомических и малых (сегменториентированных) резекций печени методом Каплана-Мейера

По данным log-rank теста различия в общей выживаемости не достигали уровня статистической значимости ($p=0,310$).

Отдаленные результаты в зависимости от молекулярно-генетических факторов

Общая 3-летняя выживаемость (рисунок 8) пациентов в зависимости от конкретных мутаций генов составила: *IDH1/2* - 84 %, *KRAS* -73 %, *NRAS* - 48%, *BRAF600*- 67%, *ERBB2*- 64%, при мутациях *MET*, *PIK3CA*, *EGFR* – не достигнута.

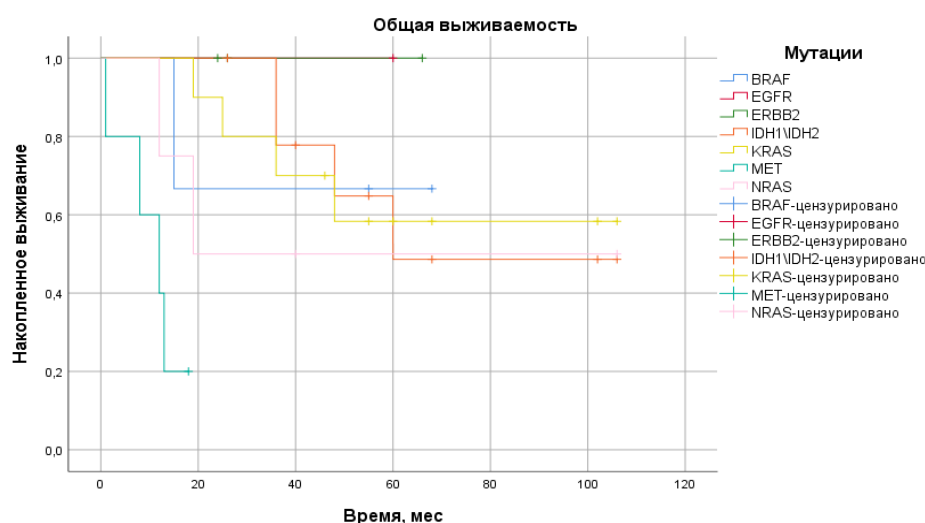


Рисунок 8 — Общая 3-летняя выживаемость пациентов в зависимости от наличия мутации

Анализ выживаемости после хирургического лечения показал, что группа пациентов с мутацией в генах *IDH1/2* имела лучшую общую 3-летнюю выживаемость по сравнению с другими мутациями, а наиболее неблагоприятные результаты общей выживаемости выявлены для пациентов с мутацией в гене *MET*. Анализ Каплан-Мейера с определением теста Кокса-Ментела (более информативен в малых выборках) показал достоверную статистическую значимость $p=0,0055$ ($p<0,05$), что также соответствует данным современных исследований.

Также была проанализирована безрецидивная 3-летняя выживаемость в группах пациентов с разными мутациями. В отношении данного показателя были получены достоверно лучшие результаты для пациентов с мутацией генов *IDH1/2*.

Безрецидивная 3-летняя выживаемость пациентов при различных мутациях составила: *IDH1/2* - 44%, *KRAS* - 45 %, *NRAS* - 50%, *BRAF* -34%, при мутациях *ERBB2*, *PIK3CA*, *MET*, *EGRF* - не достигнута (рисунок 9).

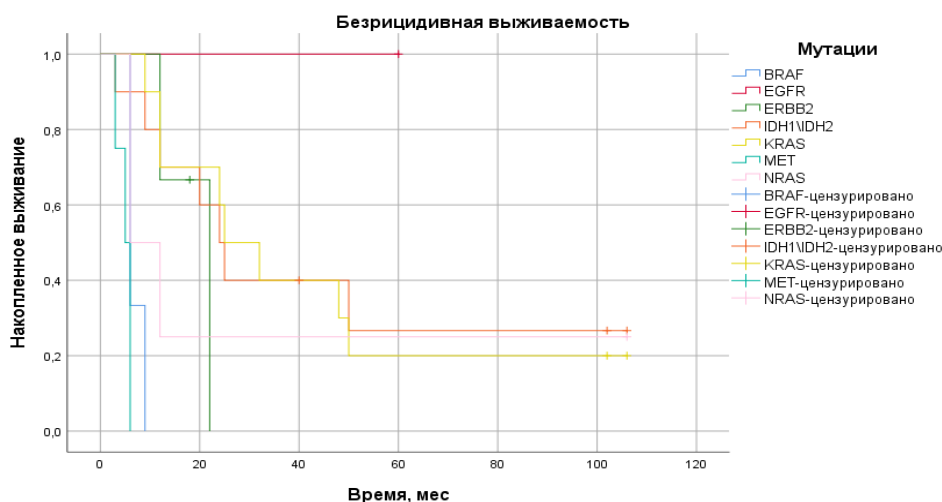


Рисунок 9— Безрецидивная 3-летняя выживаемость у пациентов с различным мутационным статусом

В дальнейшем выполнен анализ выживаемости методом Каплан-Мейера с определением критерия Log Rank (таблица 7), а также однофакторный (таблица 4) и многофакторный (таблица 5) анализ для оценки влияния на выживаемость наиболее часто выявленных мутаций, а именно мутаций генов *IDH1/2*, *KRAS*, *MET*, на которых можно подробнее остановиться.

Таблица 7 — Влияние различных генетических альтераций на общую выживаемость методом Каплан-Мейера с критерием Log Rank

Общая выживаемость	1-летняя	3-летняя	5-летняя
<i>KRAS</i> mut, n=11	100,0%	77,8%	64,8%
<i>KRAS</i> WT, n=30	68,1%	55,7%	41,7%
<i>MET</i> mut, n=5	40,0%	20,0%	Нет наблюдений
<i>MET</i> WT, n=36	90,8%	65,4%	51,5%
<i>IDH</i> mut, n=10	100,0%	78,0%	58,9,8%
<i>IDH</i> WT, n=31	76,8%	52,9%	43,8%

Мутация генов *IDH1/2*

При изучении влияния мутации генов *IDH1/2* на отдаленные результаты методом Каплан-Мейера с критерием Log Rank выявлено, что общая выживаемость группы пациентов с наличием мутации генов *IDH1/2* была лучше, чем группа больных с диким типом гена *IDH1/2*. Различия были статистически значимыми ($p=0,048$) (таблица 7, рисунок 10).

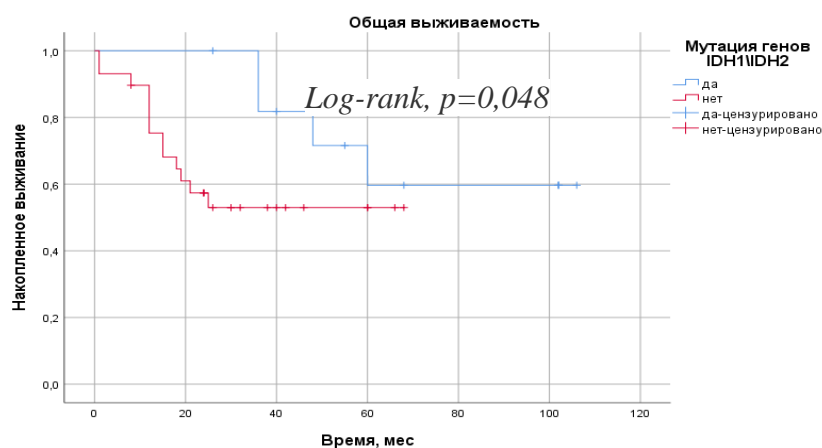


Рисунок 10 — Общая выживаемость пациентов с мутированным и диким типом генов *IDH1/2* методом Каплан-Мейера с критерием Log Rank

При проведении анализа Каплана-Мейера в отношении безрецидивной выживаемости пациентов с наличием мутации генов *IDH1/2* и пациентов с диким типом генов *IDH1/2* не было получено достоверной разницы между группами; Log Rank тест=0,3921.

При выполнении однофакторного и многофакторного анализа получены аналогичные результаты, т.е. мутация генов *IDH1/2* является независимым благоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости (таблицы 4 и 5).

Мутация гена *KRAS*

Нами изучено влияние наличия мутации в гене *KRAS* на клинико-морфологические характеристики и исходы больных с ВПХЦР в российской популяции.

Анализ влияния мутации гена *KRAS* на общую выживаемость пациентов представлен на рисунке 11.

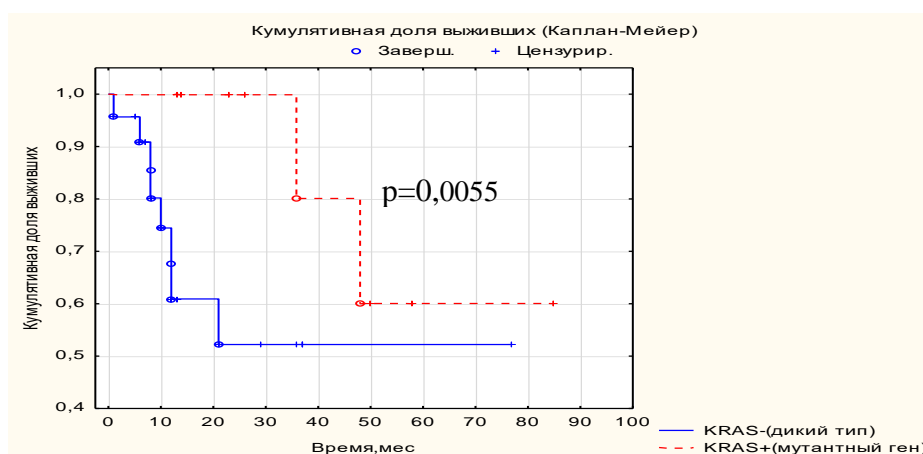


Рисунок 11 — Анализ влияния мутации гена *KRAS* на общую выживаемость методом Каплан-Мейера с определением теста Кокса-Ментела

Данные нашей работы свидетельствуют о том, что пациенты с мутацией гена *KRAS* имели лучшую общую выживаемость по сравнению с пациентами с диким типом гена *KRAS*. Анализ выживаемости Каплан-Мейера с определением теста Кокса-Ментела (рис. 11), который более информативен при выборках малого размера, показал достоверную статистическую значимость $p=0,0055$ ($p<0,05$). Аналогичные результаты получены и при выполнении анализа методом Каплан-Мейера с критерием Log Rank ($p=0,02$). Однако при выполнении однофакторного и многофакторного анализа (таблицы 4 и 5) мутация гена *KRAS* не оказала влияния на общую выживаемость.

Согласно результатам анализа Каплан-Мейера данных за достоверные различия в группах пациентов с мутацией гена *KRAS* и диким типом этого гена в

отношении безрецидивной выживаемости не получено (Log-rank test, $p=0,1754$, критерий Кокса-Ментела, $p=0,1983$).

Результаты однофакторного и многофакторного анализа не подтвердили влияния на общую и безрецидивную выживаемость мутации гена *KRAS* при ВПХЦР в российской популяции.

Мутация гена *MET*

В нашем исследовании мутация гена *MET* наблюдалась в 12% случаев (5 пациентов). По нашим данным, 3-летняя общая и безрецидивная выживаемость пациентов с мутацией гена *MET* после хирургического лечения не достигнута. Также наихудшая общая выживаемость отмечалась у пациентов с мутацией гена *MET* ($p<0,001$). Однофакторный анализ (таблица 4) показал, что ген *MET* ассоциирован с негативным прогнозом в отношении общей выживаемости при внутривенной холангиокарциноме ($p=0,001$). По данным многофакторного анализа (таблица 5) мутация гена *MET* также является независимым негативным прогностическим фактором ($p=0,025$). При анализе выживаемости Каплана-Мейера среди групп с различными мутациями выживаемость пациентов с мутацией *MET* была достоверно ниже.

Таким образом, к мутациям благоприятного прогноза можно отнести мутации в генах *IDH1/2*. Мутация гена *KRAS* оказала нейтральное влияние на прогноз. В то же время, мутации в генах *MET* являются факторами неблагоприятного прогноза в отношении общей и безрецидивной выживаемости.

Отдаленные результаты хирургического лечения в зависимости от проведения химиотерапии, таргетной терапии

Из 67 пациентов, подвергшихся хирургическому лечению, 58 пациентов (86,5%) получали адъювантную химиотерапию. Из них 48 больным (82,7,6%) в качестве терапии были назначены препараты платины и пиримидинового ряда (циплатин (оксалиплатин) и гемцитабин (капецитабин)), и соответственно у 10

(17,2%) пациентов с учетом общего состояния (ECOG) была назначена монотерапия капецитабином.

Остальные 9 (13,4%) пациентов (более ранних лет) не получали адъювантную химиотерапию по разным причинам (неудовлетворительное состояние пациентов, отказ пациентов от химиотерапии).

Показатели общей выживаемости пациентов, получивших хирургическое и комбинированное лечение (резекция печени в сочетании с адъювантной химиотерапией) представлены на рисунке 12. Пациенты, получавшие комбинированное лечение отличались лучшей общей выживаемостью. При этом полученные результаты были статистически достоверными ($\chi^2=32,15$; $p=0,0001$).

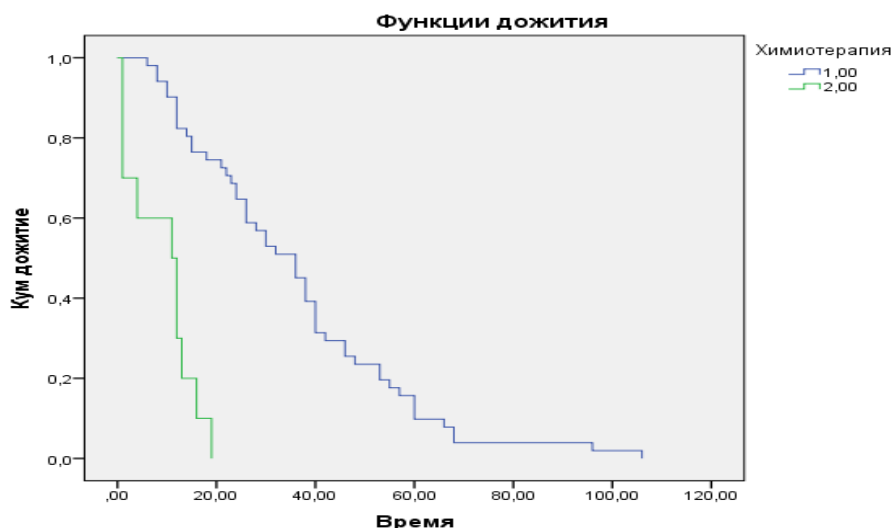


Рисунок 12 — Анализ выживаемости Каплана-Мейера для пациентов с ВПХЦР в зависимости от химиотерапии

Проведение адъювантной химиотерапии достоверно улучшает общую выживаемость пациентов с внутриспеченочным холангиоцеллюлярным раком.

Общая выживаемость пациентов с распространенным (нерезектабельным) ВПХЦР

У 6 пациентов нерезектабельным ВПХЦР выполнена чрескожная биопсия печени и в дальнейшем проведена ПХТ. Ниже представлен анализ общей выживаемости в данной группе больных (рис.13).

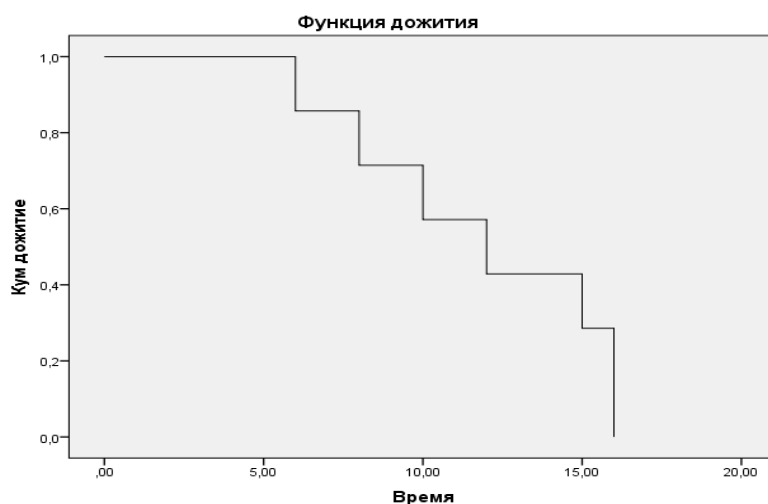


Рисунок 13 — Анализ выживаемости пациентов с нерезектабельным ВПХЦР, получавших химиотерапию

Одногодичная выживаемость составила 43%, 2-х летняя выживаемость не достигнута. Из 6 наблюдений только одна пациентка жива в настоящее время (16 месяцев), проводятся химио- и иммунотерапия (включена в клиническое исследование).

Прогностическая шкала для оценки выживаемости пациентов после хирургического лечения

При анализе выживаемости пациентов после выполненного хирургического лечения нами выделен комплекс значимых прогностических показателей, включающих демографические, клиничко-морфологические и молекулярно-генетические параметры опухоли с учетом особенностей российской популяции.

На основании этого разработан способ прогнозирования выживаемости больных с внутриспеченочной холангиокарциномой в послеоперационном

периоде, включающий определение следующих факторов (F): возраст пациента, наличие инвазии опухоли в капсулу печени, наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы, радикальность операции (статус R), наличие периневральной инвазии, а также наличие мутаций генов $IDH1/2$, $KRAS$ и MET , с последующей балльной оценкой полученных показателей, в соответствии с которой:

- возраст 60 лет и более присваивают 2 балла, менее 60 лет - 0 баллов;
 - при наличии инвазии капсулы печени присваивают 2 балла, при отсутствии – 0 баллов;
 - при наличии метастаза в регионарные лимфатические узлы присваивают 4 балла, при их отсутствии – 0 баллов;
 - при радикальности операции R2 присваивают 4 балла, R1 – 2 балла, R0 – 0 баллов;
 - при наличии периневральной инвазии – 2 балла, при отсутствии – 0 баллов;
 - при отсутствии мутации гена $IDH1$ – 2 балла, при наличии – 0 баллов;
 - при наличии мутации гена MET – 2 балла, при отсутствии – 0 баллов;
 - при отсутствии мутации гена $KRAS$ – 2 балла, при наличии – 0 баллов;
- полученные баллы суммируют, и выживаемость больных с ВПХЦР в

послеоперационном периоде определяют по соотношению:

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

где P – прогноз выживаемости у больных ВПХЦР в послеоперационном периоде;

$\sum F_i$ - сумма баллов каждого фактора F , где i = от 1 до 8;

F_{\max} – максимальное значение факторов риска, равное 20 баллов,

при получении значения $P = 35\%$ и менее можно сделать вывод о благоприятном прогнозе с выживаемостью более 36 месяцев – 70,3% и 19-35 месяцев – 29,7%,

при получении $P = 56\%$ и более можно сделать вывод о неблагоприятном прогнозе с выживаемостью менее 18 месяцев – 90,0%, 19–35 месяцев - 10,0%.

Более наглядно значимые показатели, повлиявшие на прогноз с количественными оценками в виде баллов, представлены в таблице 8.

Таблица 8 — Значимые факторы, повлиявшие на прогноз (исходные факторы риска) и их балльные характеристики.

Прогностический фактор	0 баллов	2 балла	4 балла
Возраст	Менее 60 лет	61 год и более	
Инвазия капсулы печени	Нет	Есть	
Метастазы в регионарные лимфатические узлы	Нет		Есть
Радикальность операции	R0	R1	R2
Перинеуральная инвазия	Нет	Есть	
Мутация гена <i>IDH1</i>	Есть	Нет	
Мутация гена <i>MET</i>	Нет	Есть	
Мутация гена <i>KRAS</i>	Да	Нет	

При прогнозировании учитывают значение области прогноза (варианты I, II, III) для ожидаемой выживаемости у больных ВПХЦР в послеоперационном периоде, которые распределяются следующим образом. 3 прогностические группы:

I – благоприятный прогноз – 35% и менее (0-18 месяцев - 0%, 19-35 месяцев – 29,7%, более 36 месяцев – 70,3%);

II – промежуточный прогноз – 36-55% (0-18 месяцев -35,3%, 19-35 месяцев – 42,3%, более 36 месяцев – 22,4%);

III – неблагоприятный прогноз - 56% и более (0-18 месяцев – 90,0%, 19-35 месяцев- 10,0%, 36 месяцев и более – 0%).

Таким образом, результаты диссертационной работы позволяют сделать заключение, что ВПХЦР — высокогетерогенная в отношении мутационного статуса злокачественная опухоль с неблагоприятным прогнозом. Радикальное

хирургическое вмешательство с достижением микроскопически негативного края резекции в сочетании с адъювантной терапией, по-прежнему, является основной целью лечения. При этом расширение объема хирургического вмешательства с целью повышения «радикализма» не является оправданным, так как не увеличивает продолжительность жизни пациентов, а с другой стороны, сопряжено с увеличением количества послеоперационных осложнений в раннем послеоперационном периоде, что в свою очередь удлиняет сроки назначения адъювантной химиотерапии. Последнее является обязательным компонентом комбинированной терапии независимо от статуса R. Главный принцип хирургического лечения ВПХЦР — стремление к достижению R0-резекции, что достижимо при соответствующих показаниях, и при сегменториентированных резекциях с применением ультразвук-направленного подхода. В то же время, даже при R0-резекции, в клинике встречаются пациенты с коротким безрецидивным периодом, и, наоборот, с длительным анамнезом при R1-резекциях, что, по-видимому, объясняется различными биологическими особенностями самой опухоли. В связи с этим, для прогнозирования результатов комбинированной терапии больных ВПХЦР важное значение имеет изучение молекулярно-генетического профиля опухоли, поскольку наличие «благоприятных» и «неблагоприятных» альтераций достоверно связано с отдаленным исходом после хирургического вмешательства. Выбор оптимальной лечебной стратегии больных ВПХЦР должен быть основан на персонализированном подходе с учетом клинико-морфологических и молекулярно-генетических факторов опухоли каждого пациента.

ВЫВОДЫ

1. Медиана общей выживаемости пациентов после проведенного комбинированного (хирургическое и адъювантное лекарственное) лечения составила 37 месяцев. При этом 1-годовая общая выживаемость составила 79,8 (60,9 - 90,9), трех- и пятилетняя выживаемость составили 56,5 (35,5 - 79,6) % и 39

(8,2 - 63,7) % соответственно. В течение первого года после операции рецидив возникает у 35% пациентов.

2. Клинико-морфологическим критериями, достоверно влияющими на отдаленные результаты комбинированного лечения внутривенного холангиоцеллюлярного рака, является состояние края резекции (статус R), метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов, периневральная инвазия, инвазия в капсулу печени, возраст и проведение полихимиотерапии. Размер опухоли, микрососудистая инвазия, степень дифференцировки опухоли, стадия процесса не оказали влияния на отдаленные результаты лечения пациентов ВПХЦР.

3. Расширение объема хирургического вмешательства при ВПХЦР не улучшает отдаленные результаты комбинированного лечения, с другой стороны, при оценке непосредственных результатов хирургического лечения послеоперационные осложнения реже встречались при паренхимосберегающих резекциях печени ($p < 0,05$). Объем удаляемой паренхимы печени при ВПХЦР определяется не размером опухоли, а ее локализацией. При локализации опухоли в центральных сегментах печени с вовлечением секторальных сосудисто-секреторных элементов показано выполнение гемигепатэктомии. При периферической локализации опухоли без вовлечения секторальных сосудисто-секреторных элементов сегменториентированная резекция печени является радикальным оперативным вмешательством.

4. В отношении мутационного статуса ВПХЦР отличается выраженной гетерогенностью. Частота мутаций в изученных генах представлена следующим образом: *KRAS* – 27% (n=11), *IDH1/2* – 25% (n=10), *MET* - 12% (n=5), *NRAS*- 10% (n=4), *PIK3CA* - 10% (n=4), *BRAF600* - 7%(n=3), *ERBB2*- 7% (n=3), *EGRF*-2% (n=1).

5. Мутации в генах *IDH1/2* являются маркерами благоприятного прогноза, в то же время, пациенты с мутациями в гене *MET* входят в группу риска в плане неблагоприятного прогноза; пациенты с мутацией гена *KRAS* отличались лучшими показателями в отношении общей выживаемости; при оценке

безрецидивной выживаемости достоверных различий между мутированным и диким типом гена *KRAS* выявлено не было.

6. С учетом высокого содержания белка TGF- β (трансформирующий фактор роста) в сыворотке крови у подавляющего большинства больных (63%) с рецидивом ВПХЦР после хирургического лечения можно предположить, что данный белок участвует в канцерогенезе ВПХЦР. Для оценки его диагностической ценности в качестве дополнительного маркера ВПХЦР необходимы дальнейшие исследования по мере увеличения выборки пациентов, а также в сравнении с другими онкомаркерами (СА19-9).

7. Разработанная прогностическая шкала на основании клинико-морфологических и молекулярно-генетических факторов позволяет выделить группы пациентов с более неблагоприятным прогнозом после хирургического лечения, что позволяет персонализировать тактику ведения конкретного пациента в послеоперационном периоде.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Несмотря на высокий потенциал злокачественности рутинное выполнение больших и предельно больших резекций печени (гемигепатэктомия и расширенная гемигепатэктомия) не всегда оправдано при ВПХЦР. Выполнение сегменториентированных резекций печени с применением ультразвуконаправленного подхода также является радикальным вмешательством при соответствующих показаниях с меньшим количеством осложнений в раннем послеоперационном периоде. Основной стратегией хирургического лечения ВПХЦР должно быть достижение R0-резекции.

2. С учетом того, что наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах является независимым прогностическим фактором, выполнение лимфаденэктомии в объеме D2 является обязательным. При этом должны быть удалены лимфатические узлы гепатодуоденальной связки и вокруг общей печеночной артерии. Кроме того, выполнение лимфаденоэктомии с последующим

гистологическим исследование удаленных лимфоузлов позволяет адекватно стадировать заболевание.

3. После хирургического лечения выполнение адьювантной химиотерапии является обязательным условием независимо от состояния края резекции (R0 и R1).

3. Тактика ведения больного в послеоперационном периоде и прогнозирование течения заболевания должны быть основаны не только на клиничко-морфологических факторах ВПХЦР, но и должна учитывать молекулярно-генетические характеристики опухоли.

4. Пациенты после радикального хирургического лечения с мутациями гена *MET* в опухоли, как фактора неблагоприятного прогноза, входят в группу риска, что необходимо учитывать при обследовании больного в послеоперационном периоде.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гурмиков Б.Н., Коваленко Ю.А., Вишневский В.А., Чжао А.В. Внутривенечный холангиоцеллюлярный рак: диагностика и лечение. // *Анналы хирургической гепатологии*. — 2018. — №23(4). — С. 108-117.

2. Гурмиков Б. Н., Чжао А.В. Актуальные вопросы и отдаленные результаты хирургического лечения внутривенечного холангиоцеллюлярного рака (обзор литературы). // *Высокотехнологическая медицина*— 2018. — №5(2). — С. 22-30.

3. Гурмиков Б.Н., Коваленко Ю.А., Вишневский В.А., Чжао А.В. Молекулярно-генетические аспекты внутривенечного холангиоцеллюлярного рака: обзор литературы. // *Успехи молекулярной онкологии*. — 2019. — №6(1). — С. 37-43.

4. Гурмиков Б.Н., Вишневский В.А., Коваленко Ю.А., Чжао А.В. Отдаленные результаты хирургического лечения внутривенечного холангиоцеллюлярного рака. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. — 2020. — №5. — С. 5-11.

5. Гурмиков Б.Н., Калинин Д.В., Никитин И.Г., Жинжило Т.А., Шипилова А.Н., Чжао А.В. Частота и влияние мутации гена KRAS на выживаемость больных после хирургического лечения внутриспеченочного холангиоцеллюлярного рака. // Кубанский научный медицинский вестник. — 2020. — №27(2). — С. 59-69.
6. Гурмиков Б.Н., Никитин И.Г., Жинжило Т.А., Калинин Д.В., Чжао А.В. Анализ мутации генов IDH1/2 и оценка их влияния на отдаленные исходы после хирургического лечения у пациентов с внутриспеченочным холангиоцеллюлярным раком. // Высокотехнологическая медицина. — 2020. — №7(1). — С. 32-40.
7. Чжао А.В., Гурмиков Б.Н., Вишневский В.А., Олифир А.А., Гаврилов Я.Я., Маринова Л.А., Усмонов У.Д. Двухэтапная резекция печени при внутриспеченочном холангиоцеллюлярном раке // Анналы хирургической гепатологии. — 2020. — №25(1) — С. 106-112.
8. Гурмиков Б.Н., Жаворонкова О.И., Степанова Ю.А., Вишневский В.А., Чжао А.В. Радиочастотная абляция при внутриспеченочном холангиоцеллюлярном раке (клиническое наблюдение). // Анналы хирургической гепатологии. — 2020. — №25 (3). — С. 142-148.
9. Гурмиков Б.Н., Коваленко Ю.А., Пайчадзе А.А., Маринова Л.А., Грицкевич А.А., Чжао А.В. Отдаленные результаты хирургического лечения внутриспеченочного холангиоцеллюлярного рака в зависимости от мутационного статуса опухоли. // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. — 2021. — №10(6). — С. 6-13.
10. Печетов А.А., Чжао А.В., Рагимов Ш.В., Волчанский Д.А., Маков М.А., Гурмиков Б.Н. Торакоскопическая метастазэктомия - метод выбора в этапном лечении диссеминированного холангиоцеллюлярного рака. // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. — 2021. — №10(2). — С. 39-43.
11. Грицкевич А.А., Гурмиков Б.Н., Байтман Т.П., Шипилова А.Н., Пайчадзе А.А., Чжао А.В. Холангиоканцерогенез и таргетная терапия холангиокарциномы // Медицинский совет. — 2021. — №20. — С. 101-109.

12. Bunyatov T., Zhao A., Kovalenko J., Gurmikov B., Vishnevsky V. Personalised approach in combined treatment of cholangiocarcinoma: A case report of healing from cholangiocellular carcinoma at stage IV. // *Journal of Gastrointestinal Oncology*. — 2019. — №10(4). — P. 815-820.
13. Kovalenko Y.A., Zharikov Y.O., Konchina N.A., Gurmikov B.N., Marinova L.A., Zhao A.V. Perihilar cholangiocarcinoma: A different concept for radical resection. // *Surgical Oncology*. — 2020. — №33. — P. 270-275.
14. Коваленко Ю.А., Гурмиков Б.Н., Олифир А.А., Чжао А.В. Способ определения выживаемости больных с внутрпеченочным холангиоцеллюлярным раком в послеоперационном периоде, 2021; патент на изобретение: № 2773252.
15. Kovalenko Y.A., Zharikov Y.O., Kiseleva Y.V., Goncharov A.B., Shevchenko T.V., Gurmikov B.N., Kalinin D.V., Zhao A.V. Rare primary mature teratoma of the liver: a case report. // *World Journal of Hepatology*. — 2021. — №13(12). — P. 2192-2200.
16. Айвазян Х.А., Гурмиков Б.Н., Анвари Р.О., Степанова Ю.А., Калинин Д.В., Глотов А.В., Широков В.С., Маринова Л.А., Кадырова М.В., Малышенко Е.С., Чжао А.В. Холангиобластная карцинома печени. // *Анналы хирургической гепатологии*. — 2022. — № 27 (4). — P. 125–134.
17. Gurmikov B., Kovalenko Y., Goncharov A., Chzhao A. Clinical and molecular genetic prognosis factors after surgical treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma. — 2022. — V. 24. — Suppl. 1.,S.146.
18. Холангиоцеллюлярная карцинома / С. А. Бугаев, А. Б. Варава, Н. Н. Ветшева, Б.Н. Гурмиков [и др.]. — М.: Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2021. — 368 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПХЦР	внутрипеченочный холангиоцеллюлярный рак
ГДС	гепатодуоденальная связка
ИОУЗИ	интраоперационное ультразвуковое исследование
ПГГЭ	правосторонняя гемигепатэктомия
ПНИ	периневральная инвазия
ПЦР	полимеразно-цепная реакция
рЛГГЭ	расширенная левосторонняя гемигепатэктомия
рПГГЭ	расширенная правосторонняя гемигепатэктомия
РЧА	радиочастотная абляция
ст.ПГГЭ	стандартная правосторонняя гемигепатэктомия
стЛГГЭ	стандартная левосторонняя гемигепатэктомия
ALPPS	Associated Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy
D2	удаление регионарных лимфатических узлов
R-статус	состояние края резекции
TGF- β 1	трансформирующий фактор роста бета 1