

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр хирургии  
им. А. В. Вишневского»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

**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)

Диссертация

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор

Чжао Алексей Владимирович;

доктор медицинских наук

Грицкевич Александр Анатольевич

Москва — 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНОГО РАКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	12
1.1 Эпидемиология, этиологические факторы и происхождение внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака .....	12
1.2 Молекулярно-генетические аспекты холангиоканцерогенеза .....	15
1.3 Морфологические особенности, инструментальная и лабораторная диагностика внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака .....	26
1.4 Современное состояние проблемы хирургического лечения внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака .....	32
1.5 Современное состояние химиотерапии внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака .....	41
1.6 Молекулярное профилирование опухолей желчных путей и таргетная терапия .....	44
1.7 Прогностические шкалы оценки выживаемости при внутрипеченочном холангиоцеллюлярном раке .....	50
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	53
2.1 Дизайн исследования .....	53
2.2 Характеристика групп обследованных пациентов .....	54
2.2.1 Жалобы и клиническое состояние .....	56
2.2.2 Инструментальные методы диагностики .....	57
2.2.3 Характеристика больных в зависимости от выполненных оперативных вмешательств .....	58
2.2.3.1 «Истинно» анатомические резекции печени .....	60
2.2.3.2 Сегменториентированные резекции печени с применением ультразвуконаправленного подхода .....	71
2.2.4 Характеристика больных в зависимости от химиотерапии .....	77
2.2.5 Гистологическое и иммуногистохимическое исследование .....	79
2.2.6 Молекулярно-генетическое исследование (II этап исследования) .....	83

2.2.7 Определение уровня TGF beta1 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (III этап исследования) .....	85
2.3 Статистическая обработка полученных данных .....	86
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ОПУХОЛИ .....</b>	<b>88</b>
3.1 Клинико-морфологические показатели опухоли .....	88
3.2 Результаты гистологического и иммуногистохимического исследования .....	89
3.3 Результаты инструментальных методов исследования (УЗИ, КТ, МРТ-семиотика больных внутрипеченочным холангиоцеллюлярным раком) .....	93
3.4 Результаты молекулярно-генетического исследования .....	99
3.5 Результат исследования содержания TGF beta1 в сыворотке крови больных рецидивом внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака .....	103
<b>ГЛАВА 4. ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНОГО РАКА. НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ .....</b>	<b>105</b>
4.1 Предоперационная декомпрессия (антеградная, ретроградная) .....	105
4.2 Выбор объема и варианта резекции печени .....	106
4.3 Возможности двухэтапной резекции печени при внутрипеченочном холангиоцеллюлярном раке. Портоэмболизация. Лигирование правой ветви воротной вены .....	107
4.4 Локальные методы лечения внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака .....	116
4.4.1 Возможности РЧА при внутрипеченочном холангиоцеллюлярном раке ....	116
4.4.2 Возможности ТАХЭ, сочетания ТАХЭ с криоаблацией при внутрипеченочном холангиоцеллюлярном раке .....	121
4.5 Послеоперационные осложнения и летальность .....	123
<b>ГЛАВА 5. ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНОГО РАКА .....</b>	<b>131</b>
5.1 Отдаленные результаты в зависимости от клинико-морфологических факторов .....	131
5.2 Отдаленные результаты в зависимости от молекулярно-генетических факторов .....	137

5.3 Отдаленные результаты хирургического лечения в зависимости от проведения химиотерапии, таргетной терапии .....	149
5.4 Общая выживаемость пациентов распространенным (нерезектабельным) внутривенным холангиоцеллюлярным раком .....	151
5.5 Прогностическая шкала для оценки выживаемости пациентов после хирургического лечения .....	152
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ВЛИЯНИЯ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОГНОЗ .....	157
6.1 Влияние клиничко-морфологических факторов на прогноз .....	160
6.2 Влияние молекулярно-генетических факторов на прогноз .....	169
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	178
ВЫВОДЫ .....	179
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	181
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	183
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	184
ПРИЛОЖЕНИЯ .....	219

## ВВЕДЕНИЕ

Внутрипеченочный холангиоцеллюлярный рак (ВПХЦР) – агрессивная злокачественная опухоль с высокой летальностью и высоким риском рецидива заболевания после радикального хирургического лечения [4].

Актуальность изучения данного заболевания обусловлена полиморфностью его клинических проявлений, отсутствием патогномичных признаков вследствие высоких компенсаторных возможностей печени, недостаточной специфичностью лабораторных и инструментальных методов исследования, а также ограниченностью радикального хирургического лечения вследствие распространенности опухоли на момент диагностики [4, 127].

Резектабельными являются только 15–20% ВПХЦР на момент постановки диагноза. При этом общая трехлетняя выживаемость после хирургического лечения составляет 45–60%, медиана выживаемости - 18–30 месяцев, а у неоперированных пациентов - 7 месяцев [6].

Учитывая, что результаты хирургического лечения ограничены, а традиционная химиотерапия и лучевая терапия не обладают достаточной эффективностью в отношении общей выживаемости у больных ВПХЦР [287], интерес представляет расширение понимания патогенеза и оптимизация существующих методов лечения данного заболевания.

Современное лечение злокачественных новообразований, кроме совершенствования техники операции, включает выявление и влияние на основные механизмы канцерогенеза опухоли. Перспективным в этой связи является изучение молекулярно-генетических особенностей холангиоцеллюлярного рака с целью определения мутаций, ассоциированных с прогнозом.

Это позволит уточнить особенности патогенеза и определить ключевые мишени для таргетной терапии, улучшить результаты хирургического лечения [127].

В работах зарубежных авторов показано, что ВПХЦР ассоциирован с мутациями в генах, кодирующих изоцитрат-дегидрогеназу 1 и 2 (*IDH1* и *IDH2*), и встречаются с частотой 28% [41, 147]. Метаболиты мутантных генов *IDH1* и *IDH2* в перспективе могут быть ранними маркерами ВПХЦР.

Еще одной распространенной генетической альтерацией при ВПХЦР является мутация гена *KRAS*, которая может рассматриваться как предиктивный маркер эффективности комбинированного лечения. Частота данной мутации при ВПХЦР составляет 9–24% [293, 295].

Перспективной также является оценка влияния других генетических мутаций при ВПХЦР на результаты хирургического лечения и прогноз. В частности, изучаются мутации генов *BRAF*, *MET*, *PIK3CA* и др.

Частота и спектр различных мутаций при ВПХЦР в российской популяции, а также оценка влияния этих альтераций на результаты комбинированного лечения мало изучено.

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

#### **Задачи исследования:**

1. Оценить отдаленные результаты (общая и безрецидивная выживаемость) комбинированного (хирургическое и адъювантное 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- $\beta$ 1 (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.

**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 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- $\beta$  (трансформирующий фактор роста), определяемого в сыворотке 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.

**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 BHBPS. 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 17 научных работ, из них 13 в изданиях из перечня ВАК и SCOPUS (зарубежные издания), 1 патент на изобретение (№2773252), 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.

# ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНОГО РАКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1 Эпидемиология, этиологические факторы и происхождение ВПХЦР

ВПХЦР – злокачественное новообразование, исходящее из эпителия внутрипеченочных желчных протоков, является второй по распространенности первичной опухолью печени (3% от всех опухолей ЖКТ) [127]. Данная опухоль характеризуется агрессивным течением [287]. На долю ВПХЦР приходится около 10-20% от всех случаев холангиоцеллюлярного рака [267]. Средний возраст пациентов на момент установления диагноза составляет 65 лет, большая распространённость отмечается среди мужчин [194]. В настоящее время отмечается тенденция к росту заболеваемости именно данной формы ХЦР [49]. В отличие от других форм он отличается бессимптомным течением, и это обуславливает позднее обращение пациентов. В таких случаях опухоль нерезектабельна в связи с местным распространением и наличием отдаленных метастазов [6]. В то же время резектабельными являются только около 20% опухолей на момент выявления. Кроме того, неудовлетворительными являются отдаленные результаты хирургического лечения. По данным разных авторов общая выживаемость не превышает 60% в течение 3-х лет [6, 287].

ВПХЦР может возникнуть при отсутствии предрасполагающих факторов. Однако существует ряд доказанных факторов риска, ассоциированных с развитием заболевания. Далее указаны установленные и предполагаемые факторы, ассоциированные с развитием ВПХЦР [36].

Установленными факторами риска являются первичный склерозирующий холангит, гепатобилиарные паразиты (*Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*), гепатолитиаз, болезнь Кароли, кисты желчных протоков (типы I и IV), интоксикация торотрастом.

Вероятные факторы риска: цирроз печени, хронический вирусный гепатит В, хронический вирусный гепатит С, сахарный диабет, ожирение, хроническое

употребление алкоголя (> 80 г/день), курение, токсины (диоксины, поливинилхлорид).

Одним из установленных факторов риска развития ВПХЦР является первичный склерозирующий холангит (ПСХ), который характеризуется воспалением и фиброзированием внутри- и внепеченочных желчных протоков и их стенозированием [16]. По данным разных исследований у 5–20% пациентов, страдающих ПСХ, развивается внутрипеченочный ХЦР [16, 36, 267]. Обычно ВПХЦР выявляется в среднем в течение нескольких лет от момента диагностики ПСХ. По результатам проспективных исследований риск развития ВПХЦР у таких пациентов составляет около 37%. У пациентов ПСХ средний возраст развития ВПХЦР - 50 лет в сравнении с 70 годами среди общей популяции. Как показали исследования, при аутопсии, ВПХЦР идентифицируется у 40% пациентов ПСХ [267].

Другим установленным фактором риска является болезнь Кароли (кисты V типа), а билиарные кисты I и IV типов увеличивают риск ВПХЦР в 30 раз. Стоит отметить, что удаление кист снижает, но не устраняет риск развития заболевания [75].

Еще одним установленным фактором риска для развития ВПХЦР является гепатолитиаз. Данная патология более распространена в Восточной Азии. Известно, что частота ВПХЦР у пациентов с гепатолитиазом составляет 4–11%. [301].

В странах Юго-Восточной Азии высокий уровень заболеваемости ВПХЦР ассоциирован с поражением желчных путей канцерогенными паразитами *Clonorchis sinensis* и *Opisthorchis viverrini* [75]. Частота встречаемости внутрипеченочной холангиокарциномы в Западных странах составляет 1-2 случая на 100 тыс. населения, в то же время в Юго-Восточной Азии и КНР встречается намного чаще и составляет 10 случаев на 100 тыс. населения, а, например, для Таиланда – 71 случай на 100 тыс. человек [127]. Северо-восточные области Таиланда, Лаоса и Камбоджи являются эндемичными районами по *Opisthorchis viverrini*, в то время как Китай, Тайвань, Корея и Вьетнам являются эндемичными

районами по *Clonorchis sinensis*. Паразиты населяют желчные протоки в течение многих лет, вызывая холангит, обструктивную желтуху, гепатомегалию, фиброз перипортальной системы, холецистит и холелитиаз [250]. Важно отметить, что перидуктальный фиброз сохраняется, несмотря на лечение антигельминтными средствами и впоследствии может способствовать развитию данного вида рака желчевыводящих путей [292]. Инвазия *Opisthorchis viverrini* приводит к пятикратному увеличению риска развития ВПХЦР [238].

В России случаи внутрипеченочной холангиокарциномы вследствие паразитарной инвазии ассоциированы с инфицированием *Opisthorchis felinus* (сибирской двуусткой) и характеризуются поражением внутрипеченочных желчных протоков и желчного пузыря [6]. Эндемические очаги описторхоза расположены в бассейне Волги, на Южном Урале, в Тюменской области. Заболеваемость первичным раком печени в Обь-Иртышском регионе в 10 раз выше, чем на остальной территории Российской Федерации [1].

Торотраст — контрастный препарат, который в настоящее время запрещён к применению в медицинских целях, увеличивает риск развития ВПХЦР. Хроническая интоксикация торотрастом увеличивает риск возникновения ВПХЦР в 40 раз [136].

Согласно некоторым исследованиям, вирусный гепатит В и С, хронические воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона) также ассоциированы с повышенным риском развития холангиокарциномы [206].

Некоторые случаи ВПХЦР связывают с желчнокаменной болезнью, хроническим холециститом, неспецифическим циррозом, алкогольной болезнью печени, курением, однако стоит отметить, что этиология большинства случаев остается неясной [206].

Современные исследования изучают происхождение различных вариантов ВПХЦР, определяя фактический тип клеток, из которых он исходит [247].

Около 90—95% ВПХЦР гистологически относится к аденокарциномам с различной степенью дифференцировки. Также выявляются более редкие формы

ВПХЦР — аденосквамозные, плоскоклеточные, перстневидноклеточные, муцинозные и анапластические раки. В перидуктальном и смешанных вариантах ВПХЦР экспрессируются маркеры стволовых клеток печени [138].

Bragazzi M. с соавт. предложена классификация, учитывающая линии происхождения различных видов ХЦР [45]:

- Первичный паренхиматозный ХЦР: ВПХЦР из мелких протоков и комбинированный ГЦР/ХЦР. Эти опухоли возникают в паренхиме печени из каналов Геринга, желчных протоков, междольковых желчных протоков, происходят из стволовых клеток печени, незрелых (NCAM+) холангиоцитов или зрелых (NCAM-) междольковых холангиоцитов.

- Первичный билиарный ХЦР: дистальная, воротная холангиокарцинома и происходящая из крупных, муцин-продуцирующих клеток. Эти опухоли возникают из эпителия внепеченочных желчных протоков и околопротоковых желез.

Существует предположение, что ВПХЦР возникает в результате дифференцировки и дальнейшей неопластической конверсии нормальных гепатоцитов в злокачественные холангиоциты [54]. В экспериментальной работе Fan B. с соавт. продемонстрировано, что избыточная экспрессия Notch1 и АКТ приводит к развитию инвазивных цистаденокарцином путем преобразования гепатоцитов в злокачественные холангиоциты [85]. Sekiya S. с соавт. и Suzuki H. с соавт. также показали, что Notch-опосредованное превращение гепатоцитов в желчные клетки у мышей, приводит к макронодулярному циррозу и ВПХЦР [233, 258].

Таким образом, в настоящее время принято считать, что ВПХЦР не имеет единой линии происхождения, а развивается из разных клеток-предшественников [223].

## 1.2 Молекулярно-генетические аспекты холангиоканцерогенеза

Установлено, что цитокины, факторы роста опухоли, тирозин-киназные рецепторы и желчные кислоты, нарушают регуляцию клеточного цикла и

угнетают апоптоз, запуская процесс холангиоанцирогенеза [38]. При воспалительных процессах некоторые медиаторы воспаления активируют NO-синтазу, что способствует образованию избыточного оксида азота. Он обладает цитотоксическим эффектом и повреждает структуру ДНК вследствие ее дезаминирования. Кроме того, NO угнетает активность рибонуклеотидредуктазы и таким образом нарушает процессы репарации ДНК [129]. На дальнейшее выживание клеток с поврежденной ДНК влияет медиатор воспаления - интерлейкин 6 (ИЛ 6), секретируемый стромальным клеточным окружением, увеличивающий пролиферативную активность [211]. ИЛ 6 активирует MCL1 (ингибитор апоптоза), связанный с активацией транскрипции STAT (signal transducer and activator of transcription) и протеинкиназы B (Akt). В свою очередь транскрипция MCL1 активирует ИЛ 6 в сигнальном пути MAPK. ИЛ 6 активирует киназы - JAK1 и JAK2, а через них - STAT3 [128]. Активируется воспалительный сигнальный путь и это приводит к снижению процессов апоптоза – важнейшего процесса, направленного на уничтожение клетки с поврежденной ДНК. Таким образом, хронический воспалительный процесс индуцирует через медиаторы воспаления пролиферацию клеток, повреждение структуры ДНК и угнетение апоптоза, которые в комплексе приводят к трансформации нормальной клетки в опухолевую [17].

В эмбриогенезе билиарного тракта ключевую роль играют сигнальные пути, и их нарушение ассоциировано с онкогенезом холангиоцеллюлярного рака (ХЦР). Такими сигнальными путями являются Notch и Hedgehog. Активация сигнального пути Notch способствует переходу нормальных гепатоцитов в билиарные клетки-предшественники ВПХЦР. Экспериментально показано, что гиперэкспрессия Notch 1 ведет к развитию ВПХЦР, а ингибитор  $\gamma$ -секретазы, расщепляющей Notch, подавляет онкогенез. Также нарушения сигнального пути Hedgehog ассоциированы с развитием ХЦР. Ингибирование Hedgehog Циклопамином тормозит миграцию и пролиферацию клеток ХЦР [17, 302].

Кроме того, установлена роль сигнального пути Wnt в развитии внутрипеченочных желчных путей [248]. Известно, что путь Wnt высоко активен

при ХЦР. Ингибирование передачи сигналов с помощью ингибиторов Wnt в моделях мышей и крыс снижает пролиферацию холангиокарциномы, усиливает апоптоз, приводит к регрессии опухоли [44]. Роль сигнального пути MAPK запускается активацией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). EGFR опосредованный патогенез развития опухоли из билиарного эпителия установлена в экспериментальных работах [141]. Нарушение регуляции сигнального пути PI3K/PTEN/АКТ/mTOR играет ключевую роль в патогенезе ВПХЦР. Снижение экспрессии PTEN является независимым предиктором низкой общей выживаемости больных ВПХЦР в послеоперационном периоде [60].

В процессе холангиоканцерогенеза также важную роль играют изменения в сигнальном пути TGF- $\beta$  (трансформирующий фактор роста - бета) [237].

TGF- $\beta$  – полипептид, семейства цитокинов, участвующий в процессах дифференцировки и пролиферации клеток. В нормальных эпителиальных клетках он является индуктором апоптоза и обладает антипролиферативной активностью. Однако, при нерегулируемых изменениях (гиперактивации) вследствие различных факторов (например, свободные радикалы) TGF- $\beta$  через активацию SMAD-зависимых и независимых путей может привести к различным последствиям, в том числе к усилению эпителиально-мезенхимального перехода – важнейшего биологического пути, который усиливает метастазирование различных видов аденокарцином [190].

Кроме того, чрезмерно активируясь, сигнальная система TGF- $\beta$ 1 может стимулировать рост первичной опухоли. Так, по данным Sato Y. с соавт TGF- $\beta$ 1 может стимулировать инвазивный потенциал опухоли как *in vitro*, так и *in vivo* за счет индукции эпителиально-мезенхимального перехода при холангиоцеллюлярном раке [230]. Одним из ключевых моментов эпителиально-мезенхимального перехода является подавление экспрессии E-кадгерина (эпителиального кадгерина), участвующего в образовании плотных контактов между эпителиоцитами. В исследовании Araki K. с соавт. показано, что применение рекомбинантного TGF  $\beta$ 1 приводило к подавлению E-кадгерина и активизации N-кадгерина на линиях клеток холангиокарциномы. Высокие

значения N-кадгерина у пациентов с холангиокарциномой были ассоциированы с неблагоприятным прогнозом [29].

При изучении патогенеза ВПХЦР исследуются механизмы, связанные с генетическими нарушениями, в частности влиянием различных хромосомных aberrаций (дупликации, делеции, амплификации), генетических и эпигенетических нарушений в генах-супрессорах и онкогенах. При исследовании образцов опухолевой ткани ВПХЦР были выявлены хромосомные делеции 1p, 4q, 8p, 9p, 17p, и 18q и дупликации на 5p, 7p, 8q, 17q, и 20q [17]. Возникающие при этом мутации в онкогенах оказывают активирующие или инактивирующие влияния на различные сигнальные каскады, в частности каскады Ras / Raf / MEK / ERK и PI3K / PTEN / Akt / mTOR. При этом наиболее важными компонентами этих каскадов являются онкогены *RAS*, *RAF*, *MEK*, *PIK3CA*, *MET*, TP53, *AKT*, *PTEN* и, мутация в этих генах играют ключевую роль в трансформации нормальной клетки в злокачественную. С другой стороны, различные лекарственные препараты, специфически блокирующие эти нарушения, могут быть чрезвычайно эффективными [184, 264]. Исходя из этого, крайне важно изучение частоты встречаемости и прогностического значения этих мутаций при ВПХЦР.

В частности, по данным исследования опухолевой ДНК у 229 пациентов с ВПХЦР мутации TP53 встречались в 21% случаев. Мутация этого гена играет немаловажную роль в холангиоканцерогенезе за счет нарушения регуляции клеточного цикла и апоптоза [17, 94, 241].

Одной из часто определяемых и наиболее изученных мутацией при различных опухолях является мутация гена *KRAS*. Частота встречаемости этой мутации при ВПХЦР по данным Xu R. и др. колеблется от 9 до 24% [295]. В настоящее время сохраняются дискуссии в отношении прогностического значения данной мутации при ВПХЦР.

Эти гены участвуют в регуляции сигнального пути RAS / RAF / MEK / ERK.

Каскад RAS / RAF / MEK / ERK включает серию цитоплазматических белков, которые осуществляют передачу сигнала от мембраны клетки к ядру

посредством активности киназ MEK и ERK. Онкогенная активация этого пути обусловлена специфическими мутациями в киназных областях генов, которые вызывают конститутивную индукцию фосфорилирующей функции белков RAS, что, в свою очередь, способствует пролиферации, дифференцировке, миграции и метастазированию опухолей [97, 153, 208].

Мутации *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* хорошо известны при различных видах рака, включая внутрипеченочную холангиокарциному, и представляют собой субстрат для целевой терапии, которая используется в настоящее время [207].

Ген *KRAS* является одним из ключевых звеньев сигнального пути EGFR-KRAS-BRAF-MEK-MAPK, который регулирует клеточную пролиферацию, ангиогенез, апоптоз [5, 215]. Он регулирует синтез цитоплазматического белка *KRAS*, участвующего во внутриклеточной передаче сигнала от рецепторов факторов роста. Ген *KRAS* относится к протоонкогенам. При злокачественных опухолях человека он довольно распространен, и его активирующие соматические мутации обнаруживаются примерно в 30–40% случаев. Наиболее частые локализации этой мутации в экзоне 2 (кодоны 12 и 13) и реже в экзоне 3 (кодоны 59 и 61) или в экзоне 4 (кодоны 117 и 146) [39, 174].

В настоящее время частота встречаемости мутации гена *KRAS* при внутрипеченочной холангиокарциноме оценена в нескольких зарубежных исследованиях, но результаты очень вариабельны. Так, по этим данным частота встречаемости мутаций генов *KRAS* при внутрипеченочной холангиокарциноме варьирует от 0 до 32% [214, 311].

По данным Walter D. с соавт. *KRAS* и *NRAS* мутируют при ВПХЦР в 9,5% и 3,6% соответственно ВПХЦР [280].

Белки семейства RAF, BRAF и CRAF являются одним из ключевых элементов сигнального каскада MAPK, передающего сигнал от ростовых факторов (рецепторов клеточных мембран) в ядро клетки. В норме эти белки «принимают» активирующий сигнал от белков семейства RAS и «передают» его на белки семейства MEK. Мутации типа *BRAF* переводят белок BRAF в постоянно активированное состояние, что обеспечивает непрерывную

стимуляцию, пролиферацию, независимую от внешних факторов. Ингибиторы мутантного белка BRAF блокируют этот патологический сигнал к пролиферации, но одновременно парадоксальным образом активируют белок CRAF, который начинает генерировать практически аналогичный, хотя и более слабый пролиферативный сигнал и передавать его белкам MEK. Таким образом, сочетание препаратов-ингибиторов мутантного BRAF с ингибиторами MEK обеспечивает максимальную противоопухолевую активность. Эффект данных групп препаратов отмечен у пациентов с различными гистологическими типами BRAF-мутированных злокачественных опухолей: меланомой, ХК, колоректальным раком, немелкоклеточным раком легкого, саркомой мягких тканей, злокачественными глиомами и гемобластомами [115].

Согласно зарубежным исследованиям, распространенность мутаций гена *BRAF* нечастая и, как правило, ассоциирована с возникновением различных опухолей: неходжкинской лимфомой, колоректальным раком, злокачественной меланомой, папиллярным раком щитовидной железы, немелкоклеточным раком легкого, глиобластомой и астроцитомой мозга. При ВПХЦР мутация гена *BRAF* встречается значительно реже, чем при других опухолях [115, 192]. В настоящее время зарегистрировано более 30 мутаций в гене *BRAF*, обладающих онкогенным потенциалом. В основном затрагивается кодон V600, происходит аминокислотная замена, которая в конечном итоге приводит к тому, что белок BRAF становится постоянно активным, даже в отсутствие факторов роста. В 90% случаев валин (V) является заменителем глутаминовой кислоты (E), поэтому мутации получили название V600E [71, 115, 255].

Ингибирование белка BRAF, который имеет постоянную повышенную активность в мутированных клетках, приводит к выраженному противоопухолевому эффекту. Однако применение ингибиторов BRAF (дабрафениб) в качестве монотерапии приводит к развитию резистентности через 6-7 месяцев. Для предотвращения резистентности к противоопухолевой терапии их применяют вместе с ингибитором MEK, который также блокирует путь киназы Ras-Raf-MEK-МАРК .

Немаловажно, что опухоли различного гистогенеза с мутацией *BRAF* V600E различно отвечают на таргетную терапию. Так, при злокачественной меланоме монотерапия ингибиторами *BRAF* зачастую обладает достаточной эффективностью, но при *BRAF*-мутированном колоректальном раке необходимый эффект достижим только при сочетании ингибиторов *BRAF* с антителами против рецептора эпидермального фактора роста [71, 255]. При холангиокарциноме монотерапия ингибиторами *BRAF* показывает сравнительно невысокие результаты, а комбинированная терапия ингибиторами *BRAF* и *MEK* позволяет достичь выраженного регресса опухоли. Терапия по модели колоректального рака (вемурафениб + панитумумаб + иринотекан) в ряде случаев индуцировала полный регресс опухоли [213, 242], однако её целесообразность в настоящее время требует дальнейшего изучения.

Кроме того, доказана корреляционная связь соматических мутаций в генах *IDH1* и *IDH2* с возникновением ВПХЦР и встречается с частотой 28% [147]. В норме эти гены кодируют синтез изоцитрат-дегидрогеназы 1 и 2 (*IDH1* и *IDH2*). Мутации генов *IDH1/IDH2* определяются с частотой 28% при ВПХЦР. При этом предполагается, что мутации этих генов коррелируют с эпигенетическими нарушениями, в частности, с гиперметилованием ДНК [227]. В настоящее время за рубежом зарегистрирован препарат Ивосидениб, препарат был одобрен на основании результатов международного РКИ III фазы ClarIDy. В исследование были включены 187 пациентов с холангиокарциномой с мутацией гена *IDH1*. Выживаемость без прогрессирования у пациентов, получавших ивосидениб, была выше- 2,7 мес. против 1,4 мес. ХЦР. По данным некоторых авторов считается, что мутация генов *IDH1/IDH2* имеет прогностически благоприятное значение [147].

В канцерогенезе различных злокачественных опухолей, в том числе, и холангиокарциномы, участвуют также мутации других генов, в частности, мутации генов *MET*, *PIK 3CA*, *ERBB2*, *EGFR*, *FGFR*.

Ген *MET* кодирует тирозин-протеинкиназу с-Met или фактор роста гепатоцитов рецептора (HGFR), обладает тирозинкиназной активностью и является необходимым для эмбрионального развития, органогенеза и заживления

ран [43]. Аномальная активация *MET* при раке ассоциирована с плохим прогнозом, вызывает рост опухоли, образование новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и метастазирование. Мутация гена *MET* определяется при многих типах злокачественных опухолей человека, включая рак почки, печени, желудка, груди и головного мозга [132, 149].

В исследовании Wang Sh.-Ch. с соавт. мутация гена *MET* была прогностическим фактором неблагоприятного исхода с меньшей продолжительностью безрецидивной выживаемости. *MET*-гиперэкспрессия была обнаружена в 10 (11,90%) случаях из 84 ВПХЦР и связана с большим размером опухоли (более 5 см) и сниженным уровнем общей выживаемости [283]. Хотя в данном исследовании мутация *MET* была ассоциирована с неблагоприятным прогнозом, в некоторых других работах сообщалось о противоречивых результатах [289].

Ген *PIK3CA* - важнейший регулятор внутриклеточного сигнального пути PIK3CA/AKT/mTOR, который играет одну из ключевых ролей в регуляции клеточного цикла. Активация *PIK3CA* фосфорилирует AKT, который транслоцируется в плазматическую мембрану и производит ряд нисходящих эффектов, посредством активации mTOR, выполняющем некоторые из наиболее важных транскрипционных функций [146]. Данный сигнальный путь физиологически ингибируется геном-супрессором *PTEN*, но при многих типах рака он остается гиперактивным, снижая апоптоз и обеспечивая пролиферацию.

По данным зарубежных авторов мутация гена *PIK3CA* встречается в 4,4% ВПХЦР [280]. Нарушение регуляции сигнального пути PIK3/PTEN/Akt/mTOR играет ключевую роль в патогенезе ВПХЦР. Снижение экспрессии *PTEN* является независимым предиктором низкой общей выживаемости больных ВПХЦР в послеоперационном периоде [60].

В исследовании Ruzzenente A. мутация гена *PIK3CA* была ассоциирована с неблагоприятным прогнозом при ВПХЦР [226].

Человеческие рецепторы эпидермального фактора роста (HER, ErbB) составляют семейство поверхностных рецепторов клеток, вовлеченных в

передачу сигналов, регулирующих нормальный рост и дифференцировку клеток. Семейство белков ErbB включает 4 мембранно-связанных тирозиновых протеинкиназ, одна из них - рецептор эпидермального фактора роста ErbB-2, который регулируется геном *HER2*. Ген *HER2* регулирует рост и деление клеток. Наличие большого количества рецепторов HER2 на поверхности раковой клетки приводит к нарушению регуляции роста клеток. Опухоли быстрее растут, более агрессивны и меньше подвержены воздействию химио- и таргетной терапии [187].

Сверхэкспрессия и амплификация *ERBB2* выявлялись в 4–6% профилированных холангиокарцином по данным Weinberg B. [268].

Ген *EGFR* кодирует белок EGFR (ErbB-1). Рецепторы EGFR (EGFR; ErbB-1; HER1) также входят в группу семейства тирозинкиназ. В отличие от других генов, активируясь, в результате точечной мутации, EGFR запускает каскад нескольких сигнальных путей (в частности, RAS / RAF / MEK / ERK, PI3K / Akt / mTOR, JAK / STAT). Эти сигнальные пути (описаны ранее) играют важную роль в регуляции дифференцировки клеток, пролиферации, миграции и ангиогенеза [164].

По данным разных авторов мутация *EGFR* наблюдались в 10%-15% холангиокарцином [57, 102, 164]. Однако, из-за небольших выборок данные противоречивы относительно того, выше ли распространенность при внутривисцеральной или внепеченочной ХЦР. Гиперэкспрессия *EGFR*, по-видимому, более распространена при ВПХЦР (11–27%) по сравнению с воротной холангиокарциномой [199, 298].

Прогностически мутация гена *EGFR* является негативным предиктором общей выживаемости при ВПХЦР [27] и, возможно, является перспективной мишенью для таргетной терапии.

В настоящее время частота мутаций этих генов при ВПХЦР, а также их влияние на результаты комбинированной терапии в российской популяции не изучено.

Согласно зарубежным авторам, существуют определенные кластеры подтипов ХЦР, обусловленные характерными молекулярно-генетическими мутациями. Существует предположение, что этиопатогенез заболевания приводит

к соответствующим генетическим абберациям. Так для поражений вследствие холелитиаза, вирусного гепатита или глистной инвазии, характерны соответствующие мутации. В исследовании Сао J., где приводился сравнительный анализ спектра различных генетических аббераций, показана гетерогенность пациентов восточно-азиатской и европейской популяций. Группы сравнения состояли из 164 пациентов из Азии и 283 пациентов из западной базы данных. Распространенность мутаций *KMT2C*, *BRCA 1/2*, *DD2* встречалась достоверно чаще по сравнению с пациентами западной популяции. Для западной популяции более характерными были мутации *CDKN2A* и *IDH1/2* [53].

Распространенность мутации гена *IDH1/2* по данным различных зарубежных авторов представлена в таблице (Приложение 1) [22, 40, 42, 66, 77, 91, 110, 163].

Также в таблице (Приложение 2) представлена частота распространенности мутации гена *KRAS* у пациентов с внутрипеченочной холангиокарциномой по данным авторов в различных странах [66, 120, 224, 280, 309].

Новые исследования очертили молекулярно-генетический профиль каждого подтипа ВПХЦР, выделив различные закономерности мутаций, повторяющиеся в конкретных анатомических подтипах.

Более характерными для внутрипеченочной холангиокарциномы являются мутации *IDH1/2*, *KRAS*, *BRAF*, *PI3K-AKT*, *FGFR*, *BRAC1/2* согласно разным авторам [41, 223].

Для воротной холангиокарциномы наиболее распространены *ERBB2*, *KRAS*, *PI3K-AKT*, *BRAF*. Для дистальной холангиокарциномы – *ERBB2*, *KRAS* < *BRAF*, *BRAF*, *FGFR*, *BRAC1* [41, 182].

### **Эпигенетические нарушения при ВПХЦР.**

В современных работах зарубежных авторов большое внимание уделяется эпигенетическим нарушениям при ВПХЦР, в частности, гиперметилованию ДНК и модификациям гистонов, которые участвуют в регуляции экспрессии генов. Как ранее отмечалось гиперметилирование ДНК может быть индуцировано хроническим воспалительным процессом [205].

Снижение экспрессии генов-супрессоров при гиперметилировании ДНК ассоциировано с повышением нестабильности ДНК. Гиперметилирование ДНК, наблюдаемое при внутрипеченочной холангиокарциноме, приводит к снижению экспрессии генов-супрессоров: *CDKN2* (83% ХЦР), *SOCS3* (62%), *RASSF1A* (69%) и *APC* (47%) [241]. В работе Nakaoka T. и соавт. сообщается, что при гиперметилировании происходит подавление экспрессии генов *MHL1*, *p14*, *DARK* (death-associated protein kinase). Указанные изменения ассоциированы с ВПХЦР. К генам, наиболее часто подвергающимся метилированию при ВПХЦР, относятся *CCDN2*, *CDY13*, *GRIN2B*, *RUNX3*, *TWIST1*. В работах вышеуказанных авторов также сообщается об эффективности эпигенетической терапии препаратами, ингибирующими метилирование ДНК, пациентов ХЦР [198].

В нескольких исследованиях показано, что гиперметилирование ДНК в промоторной области гена *MLH1*, участвующего в процессах репарации ДНК, связано с неблагоприятным прогнозом пациентов с холангиокарциномой [171].

Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК, регулируют не только белок-кодирующие гены, но также некодирующие последовательности генома, на основании которых формируется микроРНК [219]. МикроРНК — это небольшие некодирующие РНК, которые могут взаимодействовать с мРНК различных генов-мишеней - как онкогенов, так и супрессоров опухолевого роста. Таким образом м-РНК участвует в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии этих генов. ДНК-метилирование в клетках холангиокарциномы инактивирует miR-370. МикроРНК принимает участие в клеточной пролиферации и апоптозе [186, 209].

Лекарственные препараты, воздействующие на эпигенетические изменения, такие как ингибиторы метилирования ДНК и ингибиторы гистон-диацетилазы (HDAC), перспективны для лечения внутрипеченочного ХЦР. Они обладают противоопухолевым действием при холангиокарциноме благодаря супрессии ДНК метилтрансфераз [111]. Главным недостатком таких препаратов является неспецифичность их действия, поэтому продолжается поиск препаратов, которые бы более избирательно воздействовали на CpG островки в промоторах генов-

супрессоров. Ожидается, что такие препараты позволят уменьшить побочные эффекты эпигенетической терапии ХЦР [269].

В процессе холангиоканцерогенеза немаловажную роль играет строма и опухолевое микроокружение. Внутривнутрипеченочная холангиокарцинома характеризуется повышенным содержанием в стромальной ткани опухоль-ассоциированных фибробластов (ОАФ). Они способствуют прогрессированию опухолевого процесса [246]. Детальные механизмы взаимодействия опухоли и стромы этого процесса до конца не изучены. В связи со всем вышесказанным актуальными остаются исследования, посвященные поиску таргетного воздействия на ОАФ.

### **1.3 Морфологические особенности, инструментальная и лабораторная диагностика ВПХЦР**

Большинство случаев холангиокарцином представлены аденокарциномой различной степени дифференцировки (примерно 90% случаев). Реже встречаются такие морфологические формы как светлоклеточный рак, муцинозная карцинома, перстневидноклеточный рак, сквамозно-клеточный рак, аденосквамозная карцинома, мелкоклеточный рак, папиллярная карцинома [37]. Аденокарциномы желчных путей по характеру роста делятся на три типа: склерозирующий, нодулярный и папиллярный [3].

Выделяют три макроскопически различных типа ХЦР (Liver Cancer Study Group of Japan (LCSGJ)): 1) объем-формирующий или узловой – узел округлой формы без фиброзной капсулы с относительно экспансивной формой роста, локализующийся в периферических отделах паренхимы печени. При этом, как правило, не отмечается врастания в крупные ветви портальной триады; 2) перидуктально-инфильтративный тип – характерно распространение опухоли вдоль крупного желчного протока, с прорастанием в окружающие сосуды, нервы и паренхиму печени. При этом, отмечается расширение желчных протоков; 3) внутрипротоковый тип – опухоль растет внутри желчного протока, возможно

развитие окклюзии протока. Этот тип характерен для крупных желчных протоков [101].

### **Инструментальная диагностика**

Инструментальная диагностика ВПХЦР имеет решающее значение для определения тактики хирургического лечения. Первичный диагностический поиск начинается с ультразвукового исследования (УЗИ). УЗИ позволяет диагностировать внутрипеченочную холангиокарциному как однородные и разнородные опухолевые узлы, не имеющих специфических УЗ-признаков: в 75% случаев они гиперэхогенны, в 10 % – изоэхогенны, в 15% – гипоехогенны с неровной границей [82]. Характерным признаком данного заболевания является расширение желчных протоков проксимальнее опухоли [59].

Одним из ведущих методов диагностики ВПХЦР является мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) с внутривенным контрастированием, позволяющая с большой достоверностью верифицировать образования в печени. Тем не менее, по данным некоторых авторов, существует ряд трудностей при МСКТ, ассоциированных с дифференциальной диагностикой с другими очаговыми поражениями печени [13, 145].

На нативных МСКТ-изображениях ВПХЦР может выглядеть как низкоплотное, неинкапсулированное образование округлой формы с неровными контурами. Диагностическая ценность МСКТ увеличивается с применением внутривенного контрастирования с оценкой васкуляризации образований в артериальную, венозную и отсроченную фазы исследования. Также оценивается степень вовлеченности магистральных сосудов в опухолевый процесс. Данный метод применяется также для оценки уровня обструкции желчевыводящих путей [13].

Для ВПХЦР характерны такие МСКТ-признаки, как периферическое кольцевидное и центростремительное усиление в артериальную и венозную фазы соответственно, втяжение капсулы печени.

Несмотря на высокую информативность МСКТ при диагностике ВПХЦР, недостатком метода является ограничения в оценке распространенности опухоли,

что может быть обусловлено особенностями роста опухоли [65]. Магнитно-резонансная томография (МРТ) с применением гепатоспецифичных контрастных препаратов (гадоксетовая кислота) является наиболее информативным методом диагностики. Диффузное гетерогенное контрастирование с периферическим усилением в артериальную фазу и последующие фазы - классический признак опухоли. Использование МРТ изображений с контрастированием позволяет проводить дифференциальную диагностику ГЦР и ВПХЦР [12]. МР-холангиопанкреатография также обладает диагностической ценностью более 93% и рекомендована для оценки уровня и степени блока желчных протоков [257].

Информативность ПЭТ ограничена у пациентов с внутривенной холангиокарциномой, данный метод не применяется в рутинной диагностике. Хотя ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозой ( $^{18}\text{F}$ —ФДГ) имеет достаточно высокую чувствительность в выявлении масс-формирующих форм ВПХЦР, ее возможности ограничены в диагностике инфильтративных форм [222].

Существует мнение, что предоперационная ПЭТ может быть применена в выявлении метастазов. По данным некоторых авторов в 30% случаев хирургическая тактика меняется после проведения ПЭТ [67]. Несмотря на это, в предоперационном периоде для диагностики ВПХЦР ПЭТ практически не применяется. Однако после операции данный метод может стать методом выбора для выявления рецидива заболевания и отдаленных метастазов [179].

Такие инвазивные методы диагностики как ЭРХПГ и ЧЧХГ не имеют решающего значения для первичной диагностики внутривенной холангиокарциномы, хотя позволяют в большинстве случаев получить четкую визуализацию желчных протоков, оценить протяженность и степень их поражения. Кроме того, они позволяют получить материал для морфологического подтверждения диагноза («щеточная» цитология) [112]. Диагностическая ценность этих методов при ВПХЦР значительно ниже, чем при воротном и дистальном ХЦР. Кроме того, применение этих методов связано с риском развития осложнений, таких как острый панкреатит, кровотечение [20].

Диагностическая лапароскопия может быть выполнена в сомнительных случаях или с целью исключения метастазов по брюшине [1]. В ряде случаев диагноз ВПХЦР требует морфологической верификации (сомнения в диагнозе, резектабельности опухоли) – чрескожной пункционной биопсии. Однако, по данным Heimbach J.K. трансперитонеальная биопсия при ХЦР может быть ассоциирована с риском диссеминации опухолевых клеток [108]. Пункционная биопсия с последующими гистологическим исследованием лежит в основе дифференциальной диагностики ВПХЦР с другими очаговыми заболеваниями печени. Дифференциальную диагностику ВПХЦР проводят с паразитарными инвазиями печени, доброкачественными очаговыми образованиями, метастазами других злокачественных образований и гепатоцеллюлярным раком [20].

ВПХЦР, развивающийся из внутрипеченочных желчных протоков, может иметь смешанную гистологическую картину – сочетание ГЦР и ХЦР. Иммуногистохимическое исследование биоптата с окраской на цитокератины СК7 и СК 20, после исключения другой этиологии опухоли, позволяет проводить дифференцировку ХЦР от других видов аденокарцином [234].

**Методами лабораторной диагностики** является определение, ставших рутинными онкомаркеров (СА19–9, РЭА, СУFРА 21-1, альфа-фетопротеина) [276, 168]. Опухолевый маркер СА 19-9 применяется для уточнения диагноза ВПХЦР. Тем не менее, он не рассматривается как доказательство холангиогенной этиологии выявленной опухоли [1]. СА 19-9 не определяется у 7% от общей популяции в связи с отсутствием антигена Льюиса [168]. Так же его повышение отмечается и у пациентов с неопухолевой патологией желчных путей при билиарной обструкции, гепатитах, холелитиазе, муковисцидозе и др. [228]. Однако, в одном из мета-анализов при анализе 1264 пациентов с ХЦР и 2039 пациентов без патологии печени в группе контроля, была показана чувствительность 72% и специфичность 84% для маркера СА 19-9 [38]. Высокое содержание СА 19–9 ( $\geq 1000$  U/mL) наблюдается при диссеминированном ВПХЦР, что может быть информативно при оценке распространенности опухоли [261].

Для маркера CYFRA 21-1 показана высокая диагностическая точность в сочетании с другими маркерами CA19-9, СЕА (РЭА), ММР-7. При нормальном уровне АФП высокие показатели CYFRA 21-1 является маркером ВПХЦР [119]. Поиск новых диагностических биомаркеров продолжается.

Такие инновационные маркеры, как секретируемый фосфопротеин (SSP1) и Эфрин-В2 (EFNB2), преимущественно экспрессируются при внутривнутрипеченочной холангиокарциноме и могут рассматриваться как перспективные диагностические маркеры [165]. В одном из генетических исследований выявлены 4 фактора транскрипции: FOXC1, ZIC2, NK2, NKX2-2 и рецептор к глюкагону (GCGR) как перспективные диагностические биомаркеры для ХЦР [256]. Было установлено, что биомаркер S121 имеет чувствительность и специфичность в выявлении ХЦР 87% и 89% соответственно [243].

Белок 14-3-3 относится к семейству молекул, регулирующих клеточные сигнальные пути. В последних исследованиях показано, что выявление этого белка и его изоформ при иммуногистохимическом исследовании ткани опухоли ВПХЦР ассоциировано с метастазированием в лимфоузлы, стадией опухоли, безрецидивной и общей выживаемостью [303]. Опухолевая М2-пируваткиназа (TuM2-РК) играет ключевую роль в регуляции гликолитических путей питания опухолевых клеток. Несколько исследований сообщают об эффективности применения этого биомаркера в диагностике ВПХЦР с чувствительностью и специфичностью 84% и 90% соответственно. Также отмечается ее прогностическое значение в отношении метастазов в лимфатических узлах [48, 258].

В настоящее время ведутся поиски новых маркеров для оценки эффективности проводимого лечения и рецидива заболевания, в частности по данным зарубежной литературы, ведутся работы по оценке диагностической ценности TGF beta1 [173].

Члены семейства TGF beta являются плейотропными цитокинами, которые играют важную роль в гомеостазе тканей, дифференцировке клеток и эмбриональном развитии. Внеклеточные лиганды TGF beta1 связываются с

трансмембранными рецепторами TGF beta типа I и типа II (TGF beta1 и TGF beta 2 соответственно), тем самым иницируя сигнальный каскад, который в конечном счете, приводит к измененной экспрессии белок-кодирующих и некодирующих генов-мишеней [70]. Инициация пути TGF beta приводит к фосфорилированию членов семейства SMAD, SMAD2 и SMAD3. Они взаимодействуют с общим медиатором SMAD4 и трансдуцируют сигнал в ядро. В ядре комплексы SMAD ассоциируются с различными факторами для регуляции транскрипции генов.

Сигнализация TGF beta1 диктует транскрипционные программы, которые влияют на различные физиологические процессы, такие как остановка клеточного цикла, апоптоз, эпителиально-мезенхимальный переход и иммунный надзор. Когда регуляторные механизмы сигнальной активности TGF beta нарушаются, могут возникнуть патологические состояния, такие как онкогенез.

TGF beta1 также обладает важными иммунорегуляторными свойствами, как правило, проявляет иммуносупрессивные эффекты, вследствие чего опухолевые клетки могут избежать иммунного надзора. TGF beta нарушает способность иммунных клеток распознавать и уничтожать раковые клетки, смещая дифференцировку наивных CD4+ клеток в сторону T-регуляторных клеток. Кроме того, он предотвращает разрушение опухолевых клеток естественными клетками-киллерами. Важной особенностью TGF beta1 является его способность к индукции экспрессии IL6 в клеточных линиях ВПХЦР, что усиливает прогрессирование опухоли [237]. При прогрессировании злокачественных новообразований, TGF beta1 оказывает стимулирующее воздействие на опухоль, создавая благоприятное микроокружение для роста опухоли [118]. В случае рака печени TGF beta1 индуцирует цитостатические и проапоптотические факторы на ранних стадиях рака, но позже он способствует ЭМТ, а также стимулирует генерацию ассоциированных с раком фибробластов (CAF) в строме опухоли, которые поддерживают активную сигнализацию TGF beta1 и способствуют метастазированию [84]. Исследования подтверждают TGF beta -опосредованную индукцию ЭМТ в клеточных линиях ХЦР [274]. В крысиной модели ВПХЦР

увеличение размера опухоли и усиление внутрипеченочного метастазирования были обнаружены при сверхэкспрессии TGF beta1 [117].

#### **1.4 Современное состояние проблемы хирургического лечения внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака**

Единственным эффективным методом терапии, позволяющим добиться длительной ремиссии ВПХЦР, является хирургическое лечение. Как упоминалось ранее, отсутствие специфических клинических проявлений ВПХЦР приводит к тому, что заболевание выявляется на стадии распространенных опухолевых процессов, что обуславливает неудовлетворительные результаты лечения [194]. Неоадьювантная химиотерапия и лучевая терапия не обладают доказанной эффективностью в отношении общей выживаемости у больных с ВПХЦР [79, 194]. Средний размер опухоли у подавляющего большинства впервые выявленных пациентов составляет более 6 см, что уменьшает вероятность выполнения радикальной операции [78, 273].

При внутрипеченочной холангиокарциноме операцией выбора является резекция печени с достижением гистологически «чистых» краев, что ассоциировано с прогнозом лучшей выживаемости [260]. Принято считать, что поражение регионарных лимфатических узлов является важнейшим прогностическим фактором, наряду с такими факторами как размер первичной опухоли, степень ее дифференцировки, наличие сосудистой или периневральной инвазии, отдалённых метастазов [101].

По данным различных исследований 5-летняя выживаемость даже после радикально проведенного хирургического вмешательства обычно не превышает 20-40% [194]. Средняя продолжительность жизни пациентов, не получающих хирургического лечения по тем или иным причинам составляет 4-7 мес. [268].

В настоящее время продолжают дискуссии в отношении выбора варианта и объема резекции печени [282]. Одним из наиболее важных факторов, определяющих предполагаемый объем операции, является предоперационная инструментальная диагностика. При этом важно оценить отношение опухоли к

магистральным сосудам, что позволяет спрогнозировать технические трудности и возможную кровопотерю [28]. Выбор объема и варианта резекции печени в первую очередь зависит от размера первичной опухоли, наличия внутриорганных отсеков и их локализации [282]. С одной стороны, соблюдение принципов абластики при хирургическом лечении злокачественной опухоли обязывает к выполнению анатомической резекции печени, т.е. к удалению паренхимы печени, в которую впадает соответствующая сосудисто-секреторная ножка, окружающая первичную опухоль, в которой могут располагаться невизуализируемые при инструментальной диагностике внутripеченочные отсеки. С другой стороны, выполнение «истинно» анатомических резекций печени (с предварительной перевязкой сосудисто-секреторной ножки) по линии демаркации сопровождается удалением значительного объема паренхимы печени, что уменьшает возможность повторной операции при возникновении рецидива опухоли. [156]. В то же время «большие» резекции печени сопряжены со стимуляцией факторов роста и выработки цитокинов для гипертрофии остающейся части печени, как регенераторная реакция организма, что в свою очередь стимулирует рост внутripеченочных и внепеченочных микрометастазов [193]. Кроме того, выполнение больших резекций печени чаще ассоциировано с возникновением различных пострезекционных осложнений, в том числе послеоперационной печеночной недостаточностью, что увеличивает время восстановления больного и пролонгирует время назначения адьювантной химиотерапии. Это особенно актуально при возникновении ВПХЦР при наличии фоновой патологии, что сопровождается снижением функциональных резервов печени (цирроз печени, активный гепатит, состояние после медикаментозных воздействий, неалкогольная жировая болезнь печени, пожилой возраст больного) [113]. Продолжаются дискуссии в отношении критериев резектабельности опухоли при ВПХЦР. По данным Morise Z. и соавт. выявление внутриорганных метастазов в пределах удаляемой доли, инвазии смежных органов или магистральных сосудов, наличие единичных метастазов в регионарных лимфоузлах в настоящее время не является абсолютным противопоказанием к хирургическому лечению [194]. Такие

ситуации требуют выполнения расширенных резекций печени, однако выполнимы лишь при соблюдении полного радикализма операции (R0) [204].

С другой стороны, по данным различных авторов, возможности проведения хирургического лечения ограничены наличием внутри- и внепеченочных метастазов, канцероматозом [34, 79]. По данным некоторых авторов при макрососудистой инвазии рекомендуется диагностическая лапароскопия перед резекцией печени с целью выявления скрытых метастазов в печени [34].

Для оценки резектабельности внутripеченочной холангиокарциномы должны быть оценены следующие факторы, наличие которых является противопоказанием к резекции печени [296]: (1) распространение опухолевого процесса на правую и левую долю (билобарное поражение) или атрофия одной доли печени с контралатеральным поражением внутripеченочных желчных протоков; (2) выявление метастазов в лимфатических узлах при массивном типе холангиокарциномы; (3) сосудистая инвазия: вовлечение общей печеночной артерии или воротной вены; (4) наличие внутripеченочных метастазов в другой доле, наличие отдаленных внепеченочных метастазов; и (5) нарушение функциональных резервов печени. По данным авторов прогностическое значение при резекции печени имеет гистологически «чистый» край резекции (R0) [194]. «Чистый» край резекции (R0) может быть достигнут у 85% при агрессивном хирургическом подходе с выполнением расширенных гемигепатэктомий с резекцией внепеченочных желчных протоков [194, 268].

С учетом частой выявляемости метастазов в регионарных лимфатических узлах дискуссионным является вопрос в отношении лимфаденоэктомии. По данным Guo H. с соавт. метастазы в лимфатические узлы выявляются у 25-50% пациентов во время резекции по поводу ВПХЦР [101].

По данным Amin M.B. и соавт, а также на основании классификации опухолей по TNM 8 редакции большинству пациентов требуется (расширенная) гемигепатэктомия с лимфаденэктомией по крайней мере шести локорегионарных лимфатических узлов для адекватного стадирования [25].

При этом обязательным условием хирургического лечения ВПХЦР является выполнение лимфодиссекции по принципу en block. Производится удаление следующих групп лимфоузлов: клетчатка с лимфоузлами в области печеночно-двенадцатиперстной связки и в области панкреатодуоденальной зоны по ходу общей печеночной артерии. В настоящее время не разработаны четкие критерии о минимальном количестве лимфатических узлов, которые должны быть удалены [34].

Выполнение резекции печени при наличии метастазов в лимфатических узлах аортокавального промежутка нецелесообразно. Пациенты, которым была произведена резекция печени с лимфодиссекцией из аортокавального промежутка при их метастатическом поражении и адъювантной химиотерапии имели аналогичную общую выживаемость с пациентами, которые не подверглись резекции по данным SEER (2018) [98, 148].

Также считается, что частота поражения лимфатических узлов ассоциирована с макроскопическим типом роста опухоли: частотой  $<20\%$  у пациентов с внутрипротоковым типом, и  $80\%$  у пациентов с масс-формирующим и перидуктально-инфильтративным ростом [296]. Таким образом, различные гистологические формы ВПХЦР требуют различных хирургических стратегий.

Важным моментом при хирургическом лечении ВПХЦР является билиарная декомпрессия в предоперационном периоде. Билиарная гипертензия при ВПХЦР в отличие от воротной холангиокарциномы (опухоль Клацкина) встречается значительно реже, и ее возникновение прямо или косвенно указывает о длительном существовании процесса (большие размеры опухоли) или локализации опухолевого процесса в центральной части печени [82]. Выявлено, что у примерно  $15\%$  пациентов внутripеченочная холангиокарцинома может вызывать билиарную обструкцию с механической желтухой. В таких случаях существует необходимость в выполнении билиарной декомпрессии на предоперационном этапе [157]. Дренирование желчных протоков показано при уровне общего билирубина свыше  $150$  ммоль/л [202].

Билиарное дренирование может быть выполнено в предоперационном периоде с целью улучшения функции печени, а также как паллиативное вмешательство. К тому же дренирование желчных протоков может улучшать регенерацию печени и снизить риск печеночной недостаточности в послеоперационном периоде [202]. Если «планируемый остаток печени» составит не менее 50%, пациенты могут быть прооперированы без предварительного дренирования [123, 290]. Билиарная декомпрессия может быть выполнена эндоскопически или чрескожно [123].

Основной стратегией хирургического лечения ВПХЦР должно быть достижение микроскопически негативного края резекции [279]. Однако, часто это оказывается труднодостижимым в связи с биологическими особенностями опухоли [33]. С другой стороны, радикально выполнить операцию при ВПХЦР удаётся у ограниченного количества больных. По данным разных авторов, резектабельными являются 15-20% больных с впервые выявленным ВПХЦР [6]. Это связано со скудной клинической симптоматикой опухоли в ранних стадиях, а также биологическими особенностями самой опухоли (ВПХЦР отличается чрезвычайно инвазивным и агрессивным ростом) [49]. Кроме этого, возможности резекции печени, даже при резектабельных случаях, могут быть ограничены малым объёмом остающейся части (доли) печени, что ассоциировано с развитием острой печёночной недостаточности в раннем послеоперационном периоде и летальным исходом [34].

В настоящее время для решения проблемы малого объема предполагаемого остатка печени выполняется лигирование или эмболизация правой ветви воротной вены, а также используется способ двухэтапной резекция печени (ALPPS). Каждый из этих методов не лишен недостатков.

Впервые разделение паренхимы печени *in situ* с лигированием ПВВВ было выполнено Schnitzbauer A.A в 2012 г. [232]. Аббревиатура ALPPS (Associated Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy — разделение печени и перевязка правой ветви воротной вены для этапной резекции печени) были предложены De Santibanes E. и Clavien P. [73].

В настоящее время в мире накоплен достаточно большой опыт по выполнению двухэтапной резекции при различных заболеваниях печени, в основном, при метастатическом поражении печени при колоректальном раке. Так, на сегодняшний день, в разных странах выполнено более 1000 операций по технологии ALPPS [6]. Однако, применение этой технологии для лечения ВПХЦР в литературе освещено недостаточно.

Пересечение паренхимы печени и разрушение сосудистых коллатералей между долями органа являются основными результатами ALPPS. Медиана гипертрофии предполагаемого остатка печени после ALPPS составляет от 74 до 87%. Эффект достигается приблизительно в течение 1 недели [18].

Основными недостатками классической ALPPS является большое количество послеоперационных осложнений (желчные свищи, гнойно-септические осложнения), связанных с разделением паренхимы печени. Возникающие при этом осложнения зачастую ухудшают состояние больных с большим количеством случаев летального исхода или отодвигают второй этап операции.

Ограничением лигирования и эмболизации ПБВВ без разделения паренхимы является более медленный темп роста в объеме остающейся части печени [109]. Это связано с наличием множества сосудистых коллатералей в паренхиме между правой и левой долей печени. Как правило, гипертрофия остающейся части печени после эмболизации и лигирования ПБВВ происходит в течение 3-6 недель [169].

Увеличение промежутка между первым и вторым этапом операции способствует прогрессии опухоли [231]. Особенно это актуально для такой агрессивной опухоли в биологическом отношении, как внутривенная холангиокарцинома.

Считается, если планируемый объем резекции более 75% (ВПХЦР на фоне неизменной паренхимы печени) и более 65% при скомпрометированной печени, рекомендовано выполнение портальной венозной эмболизации (ПВЭ) или лигирования. По данным разных работ было показано, что примерно у 2000

пациентов с различными опухолями печени, ПВЭ имела технический успех в 96% случаев [272].

### **Локорегионарные методы терапии ВПХЦР**

К локорегионарным методам терапии ВПХЦР относятся радиочастотная абляция опухоли, трансартериальная химиоэмболизация, криодеструкция опухоли.

Радиочастотная абляция (РЧА) - метод термического воздействия, сопровождающийся локальной деструкцией злокачественного очага. При РЧА альтерация тканей возникает в результате высокотемпературного повреждения опухоли и прилежащей к ней паренхимы печени, которые замещаются зоной коагуляционного некроза [46]. Методы локальной деструкции на сегодняшний день широко применяются в лечении опухолевых поражений печени. Являясь эффективными методиками циторедуктивного лечения, они позволяют добиться удовлетворительных результатов лечения больных с первично нерезектабельными злокачественными новообразованиями печени [11].

РЧА чаще применяется в лечении гепатоцеллюлярной карциномы и метастазах колоректального рака в печени, в отношении которых получены неплохие результаты [263]. При ВПХЦР данные методики почти не применяются, к тому же, вследствие редкой распространённости опухоли сведений в литературе об эффективности малоинвазивных методов мало [245]. Результаты нескольких наиболее актуальных исследований представлены в таблице (приложение 3).

РЧА особенно актуальны при ВПХЦР на фоне цирроза печени, а также у неоперабельных больных, отягощенных сопутствующими заболеваниями [52]. В ряде случаев, отдаленные результаты сопоставимы с радикальной хирургической операцией. Согласно данным разных авторов 1, 3-х и 5-летняя общая выживаемость составляет 36-100%, 21-71%, 15-83% соответственно у пациентов с первичным нерезектабельным или рецидивирующим ВПХЦР (таблица 1) [52, 56, 90, 95, 135, 143, 294, 305].

В нескольких работах было показано, что радиочастотная абляция превосходит другие виды паллиативной терапии в увеличении продолжительности жизни некоторых пациентов с ВПХЦР [51, 140, 277].

Также, по данным исследования SEER было показано, что РЧА дает лучшие исходы в отдаленном периоде по сравнению с лучевой терапией, но худшие в отношении радикального хирургического лечения [26].

Безопасность процедуры зависит от степени прилегания опухоли к крупным сосудам, расположения по отношению к капсуле печени [106]. По данным различных исследователей технический успех лечения зависит от размера опухоли. Так, Chiou Y. и соавт. сообщают о результатах лечения 10 солидных ВПХЦР диаметром от 1,9 до 6,8 см с помощью РЧА. По их результатам, остаточная опухоль была обнаружена у пациентов с более крупными опухолями (диаметром 4,6 см и 6,8 см), во всех остальных случаях опухолевая ткань была полностью некротизирована [63]. Carrafiello G. с соавт. сообщают о неполной абляции опухоли у двух пациентов при размерах образования >5 см [56]. Kim J. и соавт. также наблюдали наличие остаточных опухолей после РЧА под контролем УЗИ у пациентов с опухолями 4-5,5 см [143]. Возможным объяснением недостаточной абляции опухолей крупного размера является несоответствие между геометрией опухоли и зоной некроза, вызванного РЧА. Иглы для абляции должны быть оптимально распределены внутри и вокруг опухоли; это не всегда может быть достигнуто при чрескожном доступе под УЗИ контролем. В исследовании, проведенном Haidu M. и соавт. с использованием стереотаксической радиочастотной абляции, технический успех составил 100% во всех случаях, включая опухоли диаметром 10 см. Это исследование предполагает возможность применения стереотаксической радиочастотной абляции для нерезектабельной внутripеченочной холангиокарциномы [103].

### **Трансартериальная химиоэмболизация**

Трансартериальная химиоэмболизация (ТАХЭ) применяется при нерезектабельных формах ВПХЦР с целью продлить жизнь больных, улучшить качество жизни купированием болей [19]. В исследовании Aliberti C. и соавт.

химиоэмболизация микросферами с доксирубицином 100-150 мг привела к объективному ответу на лечение у 8 пациентов из 11 [22].

В мета-анализе Ке Q. была продемонстрирована эффективность ТАХЭ при нерезектабельной внутripеченочной холангиокарциноме [137]].

Согласно данным Li J. и соавт. ТАХЭ способствует увеличению выживаемости у пациентов после рецидива ВПХ у пациентов, перенёсших хирургическое лечение [166].

### **Возможности трансплантации печени у пациентов с внутripеченочным холангиоцеллюлярным раком.**

О возможности применения трансплантации печени у пациентов с ВПХЦР нет однозначного мнения исследователей на сегодняшний момент [122].

Ранее ВПХЦР считался противопоказанием для пересадки печени в связи с неудовлетворительными исходами в отношении выживаемости и высоким риском рецидива опухоли [212].

В ретроспективном многоцентровом исследовании в 2014 г была показана хорошая 5-летняя выживаемость у 73% из 8 пациентов с циррозом печени и ранними стадиями ВПХЦР (критериями были - одиночная опухоль  $\leq 2$  см в диаметре) [76]. По данным другого более крупного многоцентрового международного рандомизированного исследования 5-летняя выживаемость была достигнута у 65% пациентов из 15 с солидными опухолями, а так же у 45% из 33 пациентов с распространенными формами ВПХЦР (одиночный узел  $> 2$  см или мультифокальные очаги) [50]. Согласно некоторым авторам, пациенты ВПХЦР вследствие ПСХ (первичный склерозирующий холангит) после проведения неoadьювантной терапии могут быть подходящими кандидатами для трансплантации печени [76].

В небольшом пилотном исследовании 5-летняя выживаемость была продемонстрирована у 65% пациентов с ВПХЦР с опухолями  $< 2$  см на фоне цирроза печени. Затем это было подтверждено в более крупном международном ретроспективном мета-анализе с использованием аналогичных критериев отбора [229].

В небольшом исследовании, которое включало 6 пациентов с нерезектабельным ВПХЦР, трансплантация печени была выполнена после неoadьювантной химиотерапии, 5-летняя выживаемость составила 83% [177].

## **1.5 Современное состояние химиотерапии внутripеченочного холангиоцеллюлярного рака**

### **Неoadьювантная химиотерапия**

На сегодняшний день нет рандомизированных исследований, подтверждающих эффективность того или иного режима химиотерапии в предоперационном периоде. Для холангиокарциномы показана возможная эффективность в увеличении безрецидивной выживаемости и в уменьшении размеров местнораспространенных опухолей [139]. Однако для пациентов эффективность предоперационной химиотерапии не изучена в достаточной мере [150].

В многоцентровом исследовании Buettner S. и соавт. оценивалось влияние неoadьювантной терапии на исходы после хирургического лечения. Достоверных различий в общей и безрецидивной выживаемости получено не было [50]. Данные исследования ABC-02 свидетельствуют о том, что для неoadьювантной химиотерапии наиболее часто применяется комбинация Гемцитабина и Цисплатина [270].

### **Адьювантная химиотерапия**

В различных ретроспективных исследованиях изучалась эффективность множества химиотерапевтических агентов в сочетании с лучевой терапией или без нее в адьювантной среде, которые ранее продемонстрировали активность в отношении местнораспространенных и метастатических форм билиарного рака. Так, недавно опубликован систематический обзор 30 исследований, включая три проспективных, с участием в общей сложности 22499 пациентов с холангиокарциномой [93, 297]. В общей сложности 3967 пациентов получили адьювантную химиотерапию, в основном гемцитабин или фторпиримидин-содержащие препараты. В метаанализе пациентов, получавших хирургическую

резекцию, адьювантная химиотерапия была связана с большей безрецидивной выживаемостью по сравнению с изолированным хирургическим вмешательством. При анализе подгрупп преимущество в отношении общей выживаемости у пациентов, получавших адьювантную химиотерапию, оставалось статистически значимым независимо от состояния края резекции (R0 или R1) и наличия региональных лимфатических узлов (N0 или N1).

Одно из самых крупных, плацебо-контролируемых рандомизированных исследований BILCAP показало эффективность адьювантной терапии билиарного рака [216]. Все включенные в анализ пациенты (447 больных) получали адьювантную химиотерапию в монорежиме капецитабин 1250 мг /м<sup>2</sup> дважды в день (8 циклов) или плацебо. При первичном анализе выявлено увеличение медианы общей выживаемости с 36,4 до 53 месяцев в группе адьювантного лечения. Исследование показало эффективность в виде стабилизации процесса от применения адьювантной химиотерапии в монорежиме капецитабином в отношении общей выживаемости. С другой стороны, назначение капецитабина показало статистически значимые преимущества в отношении безрецидивной выживаемости. Исходя из этих результатов, международные гайдлайны, и российские рекомендации, опубликованные в 2019 и 2020 гг, рекомендуют терапию капецитабином в течение полугода после проведенного хирургического лечения [239, 306]. Таким образом, на основании положительного исследования III фазы всем пациентам при отсутствии противопоказаний к химиотерапии рекомендовано назначение в адьювантном режиме капецитабина (6 мес.), применение которого улучшает показатели выживаемости для всех групп больных [31, 239].

Опубликовано также исследование JCOG 1202:ASCOT III фазы с аналогичными результатами. При проведении многоцентрового рандомизированного исследования 218 из 440 оперированных пациентов получали адьювантную терапию. В исследовании сделан вывод, что когорта больных, получавших адьювантную терапию достигла лучшей выживаемости, чем пациенты, получавшие хирургическое лечение без адьюванта [196]

При положительном крае резекции (R1, R2), метастазировании в лимфатические узлы (даже при резекции R0) рекомендовано проведение лечебной химиотерапии препаратами платины и пиримидинового ряда (GemCis или GemOx) [220.].

При рецидивирующей, метастатической и местнораспространенной внутripеченочной холангиокарциноме проводится химиотерапия 1 линии препаратами пиримидинового ряда (Гемцитабин) с препаратами платины.

Первая линия химиотерапии может быть также проведена схемой, не содержащей гемцитабин (FOLFOX4 или FOLFIRI) [19]

Стандартов химиотерапии второй линии холангиокарциномы в настоящее время не существует [19].

В исследования III фазы ABC-06(NCT01926236) при сравнении 2-х групп пациентов, получавших симптоматическую терапию и симптоматическую терапию в сочетании с mFOLFOX, выживаемость в группе пациентов, получавших химиотерапию, была лучше. Медиана общей выживаемости оставила 6,5 мес. против 5,3 мес. Это позволяет рассматривать mFOLFOX как возможный стандарт 2-ой линии химиотерапии [154].

Согласно клиническим рекомендациям определено, что максимальное преимущество от второй линии химиотерапии получают пациенты с хорошим функциональным статусом (ECOG 0–1 балл), чувствительностью опухоли к первой линии ХТ, с безрецидивным периодом > 6 месяцев и относительно низким уровнем СА19-9 (400 е д./мл) [306].

Возможными вариантами лечения местнораспространенной внутripеченочной карциномы является химиотерапия в сочетании с лучевой терапией, а также регионарные методы химиотерапии (трансартериальная эмболизация) и локальные методы деструкции опухоли (радиочастотная абляция, криодеструкция). Также альтернативной опцией является проведение стереотаксической лучевой терапии [152].

В частности, трансартериальная химиоэмболизация (ТАХЭ) применяется в лечении пациентов нерезектабельными формами ВПХЦР. Средняя

продолжительность жизни после ТАХЭ составляет 12-15 месяцев [87, 191]. При этом преимуществом в отношении продолжительности жизни обладает терапия микросферами с лекарственным покрытием по сравнению с традиционной ТАХЭ. Радиоэмболизация с применением иттрия-90 является альтернативной формой лечения для нерезектабельных пациентов со средней общей выживаемостью 11-22 месяца [125]. По данным ряда исследований при ТАХЭ или DEB-TAХЭ с различными препаратами, средняя выживаемость составила 9-30 месяцев [152].

## **1.6 Молекулярное профилирование опухолей желчных путей и таргетная терапия**

Молекулярно-генетическое профилирование опухоли лежит в основе подбора таргетной терапии при целом ряде злокачественных опухолей.

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, генетическое секвенирование нового поколения, флуоресцентная гибридизация *in situ* позволяют выявить генетические aberrации, участвующие в онкогенезе.

Для внутripеченочной холангиокарциномы исследуются поражения генов *ERBB2*, *IDH1/2*, *FGFR*, *BRAF*, *KRAS*, *PIK3CA*, микросателлитная нестабильность [97, 160, 172].

Низкая эффективность традиционной химиотерапии делает актуальным поиск методов лечения, улучшающих выживаемость в отдаленном периоде.

Успехи современной молекулярной онкологии легли в основу создания нового направления в лечении злокачественных опухолей. Использование высокопроизводительного секвенирования нового поколения позволяет расширить представления о патогенезе внутripеченочной холангиокарциномы и перспективные молекулярные мишени для таргетной терапии [218, 244, 304].

**EGFR ингибиторы.** Рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR; ErbB-1; HER1) входят в группу семейства тирозинкиназ. Вследствие точечных мутаций EGFR запускает каскад нескольких сигнальных путей, а именно- Ras-Raf-МЕК-ERK, PI3K /АКТ/mTOR, JAK-STAT. Данные сигнальные пути играют важную роль в регуляции дифференцировки клеток, пролиферации, миграции и

ангиогенезе. Гиперэкспрессия *EGFR* встречается в 10-32% у пациентов с внутриспеченочной холангиокарциномой [86, 249]. Доклинические исследования показали, что ингибирование мутантного *EGFR* позволяет эффективно подавлять рост клеток, а также индуцировать апоптоз клеток с данной мутацией [308]. Клинические испытания II фазы продемонстрировали эффективность анти-EGFR-терапии такими препаратами как Цетуксимаб (моноклональные антитела к внеклеточному домену EGFR) [99] и Эрлотиниб (ингибитор тирозинкиназного домена EGFR). Это было подтверждено как для самостоятельной терапии, так и в сочетании с Гемцитабином и Оксалиплатином (GEMOX) в терапии пациентов с прогрессирующим раком желчных протоков [99]. В исследовании III фазы, по данным Lee J. и соавт, при анализе подгруппы из 84 пациентов с ХЦР добавление Эрлотиниба к химиотерапии сопровождалось увеличением безрецидивной выживаемости (5,9 мес.) [161]. Тем не менее, не отмечено улучшения ОВ при применении данных подходов и в рекомендации по лечению ХЦР данные препараты не входят.

### **Ингибиторы RAS/RAF/MEK/ERK**

Сигнальный путь RAS/RAF/MEK/ERK, также известный как путь MAPK/ERK, играет важную роль в регуляции дифференцировки, миграции и инвазии клеток. Каскад MAPK/ERK часто активирован при ХЦР, что может быть использовано в таргетной терапии. К сожалению, попытки прямого ингибирования мутантного RAS пока не дали значимых результатов, поэтому в последнее время усилия сосредоточены на непрямых способах блокирования активности RAS и регулируемых им компонентов данного сигнального каскада [181].

По данным исследования KRASTAL-1, которое исследовало эффективность Адаграсиба при опухолях поджелудочной железы, желудочно-кишечного тракта и желчевыводящих путей при мутантном типе гена KRAS G12C, был зарегистрирован объективный ответ. Из 12 пациентов с раком поджелудочной железы в 5 случаях был отмечен частичный объективный ответ, в остальных 5 случаях достигнута стабилизация заболевания. У 17 пациентов с другими

опухольями ЖКТ частота объективного ответа составила 35%. У 4 из 8 пациентов с холангиокарциномой также зарегистрирован объективный ответ. Средняя продолжительность ответа составила 7,9 месяцев, средняя выживаемость без прогрессирования -7,9 мес. [35].

Ингибирование другого участника данного сигнального пути ингибиторами MEK вначале показали обнадеживающие результаты. По результатам исследования SWOG S1310, ингибитор MEK Траметиниб вошел в стандарт терапии второй линии при распространенной холангиокарциноме [144]. Однако, по результатам более поздних исследований, было установлено, что ингибиторы MEK в монотерапии и в комбинации с другими препаратами неэффективны при злокачественных новообразованиях билиарного тракта [89, 175].

Несмотря на низкую эффективность ингибиторов MEK, его комбинация с ингибиторами BRAF продемонстрировала синергизм и снижение риска резистентности опухоли к терапии.

Открытое нерандомизированное исследование ROAR (NCT02034110) II фазы включало 43 пациента с метастатической ХК, общий ответ на терапию составил 51%, медиана выживаемости без прогрессирования – 9 мес, ОВ-14 мес. Согласно этому исследованию успешное применение такой комбинации препаратов в лечении холангиокарциномы делает актуальным рутинное исследование на выявление мутации гена BRAF [255].

### **Ингибиторы FGFR2**

Трансмембранные рецепторные тирозинкиназы семейства рецептора фактора роста фибробластов (FGFR) участвуют в регуляции клеточной пролиферации, в процессах дифференцировки, миграции и выживания клеток. FGFR2 является членом семейства FGFR, его геномные aberrации выявляются у пациентов с внутрипеченочной холангиокарциномой с частотой 3-50% [192]. Выявление роли FGFR сигнализации в патогенезе ВПХЦР открыло новые возможности для таргетной терапии заболевания с применением FGFR-селективных и FGFR-неселективных ингибиторов, а также моноклональных антител к FGFR2.

В доклиническом исследовании Rizvi S. с соавт. (2018) сообщили, что ингибирование FGFR препаратом BGJ398 индуцировало гибель клеточных линий ВПХЦР и значительно снижало прогрессирование опухоли в мышинных моделях ВПХЦР [222]. В работе Board M. и др. (2014) был применен Понатиниб, неселективный FGFR-ингибитор, при лечении двух пациентов с прогрессирующей ВПХЦР после системной химиотерапии. У первого пациента с хромосомной перестройкой, которая привела к образованию слитного белка FGFR2-MGEA5, лечение с помощью Понатиниба привело к снижению сывороточного уровня антигена 19-9 (CA 19-9) и индуцировало некроз опухоли. У второго пациента с химерным геном FGFR2-TACC3 терапия Понатинибом привела к стабилизации заболевания [40].

Потенциальная эффективность анти-FGFR терапии показана в исследовании Soria J.C. и др. (2018). По данным клинических исследований I фазы при мутациях генов FGFR 1-3. Частота объективного эффективного ответа составила 27%, а отсутствие прогрессирования заболевания было достигнуто у 60% пациентов [252].

Опубликованы результаты исследования FIGTH-202, в котором в когорте обследованных был достигнут объективный ответ Пемигатинибом у 36%, продолжительность ответа составила 7,5 мес, исходя из этого FDA зарегистрирован препарат в качестве 2-ой линии терапии при наличии нерезектабельных форм ХЦК и прогрессировании при транслокации гена FGFR2 [114.].

### **Ингибиторы пути передачи сигналов HGF/MET**

Рецептор фактора роста гепатоцитов (HGF) представляет собой тирозинкиназный рецептор, гиперэкспрессия которого, по данным разных авторов, определяется в 12-58% опухолей (ВПХЦР). Лиганд HGF индуцирует MET-киназу и запускает ряд процессов, ответственных за инвазивный рост опухоли [32, 188, 289].

Молекулярными мишенями для прерывания пути HGF/MET является ингибирование взаимодействия между HGF и MET-рецептором, а также прямое

ингибирование MET тирозинкиназы. В настоящее время разработка ингибиторов MET все еще находится на ранней стадии. Препарат LY2801653, ингибирует пролиферацию, миграцию и инвазию клеточных линий холангиокарциномы, а также подавляет рост опухолей ксенотрансплантата [32]. В I фазе клинических испытаний участвовало 73 пациента с солидными опухолями, и были получены результаты о хорошей переносимости и безопасности его комбинации с Тиватинибом (с-MET ингибитор) и Гемцитабином. У 46% пациентов продемонстрирована стабилизация заболевания [210].

**Ингибиторы IDH.** Фермент изоцитратдегидрогеназа (IDH) участвует в цикле Кребса, катализирует превращение изоцитрата в  $\alpha$ -кетоглутарат. Мутации гена *IDH* усиливают образование 2-гидроксиглутарата (2-HG) из альфа-кетоглутарата, что ассоциировано с более высоким метилированием ДНК и, в свою очередь, способствует клеточной пролиферации, инвазии, выживанию и неоангиогенезу. Мутации генов IDH1 выявляются у 15-22% пациентов с внутрипеченочной холангиокарциномой [293].

Опубликованы результаты исследования III фазы ClarIDHу (NCT02989857), в ходе которого анализировалась эффективность ингибитора IDH1 ивосидениба. Терапия данным препаратом улучшала выживаемость больных без прогрессирования. Коэффициент объективного ответа и стабилизация заболевания составили 2,4% и 50,8% соответственно [21].

**Ингибиторы ROS1.** ROS1 — рецепторная тирозинкиназа, которую кодирует ген ROS1. Транслокация гена ROS1 обнаруживается у 1-9% пациентов с внутрипеченочной холангиокарциномой [170]. Холангиоканцерогенез усиливается в доклинических исследованиях на мышинных моделях с мутациями ROS1 за счет образования химерных белков. Форетиниб ингибировал холангиоканцерогенез, ассоциированный с транслокациями FIG-ROS. Этот препарат продемонстрировал клиническую эффективность при установленной резистентности к другому ингибитору ROS1, Кризотинибу [69].

**Ингибиторы пути передачи сигналов PI3K/ PTEN/AKT/mTOR.** В последнее время активно изучаются способы регуляции PI3K/AKT/mTOR —

внутриклеточных сигнальных путей, приводящих к активации тирозинкиназ, в частности EGFR, HER2 и MET.

PTEN является естественным ингибитором этих путей. Нарушение регуляции пути PIK3 способствует развитию опухоли, пролиферации клеток, повышению инвазивности опухоли и неоангиогенеза. Активация этого сигнального пути также может играть ключевую роль в патогенезе ВПХЦР [293]. По данным Ewald F. и др. (2013) ингибитор mTOR (RAD001) эффективен в подавлении пролиферации клеточных линий ХЦР [68]. В этом исследовании ингибирование АКТ препаратом МК-2206 дополнительно усиливало эффект ингибирования mTOR как *in vitro*, так и в экспериментальных моделях на животных. Кроме того, синергическая противоопухолевая активность двойного ингибирования путей PIK3/mTOR и HSP90, а также путей PIK3/АКТ/ mTOR и RAF/ MEK/ERK доказана в доклинических исследованиях для холангиоцеллюлярного рака. Показана некоторая эффективность Эверолимуса (ингибитора mTOR) в I фазе клинического исследования Costello В.А. в сочетании с Гемцитабином и Цисплатином для пациентов с холангиокарциномой, устойчивой к химиотерапии. Во второй фазе в виде монотерапии частота объективного эффекта составила всего лишь 5-12% [68].

### **JAK/STAT ингибиторы**

Сигнальный путь IL-6/JAK/STAT играет важную роль в патогенезе внутрипеченочной холангиокарциномы. IL-6 индуцирует фосфорилирование связанных JAK-киназ (JAK1, JAK2 и TYK2) с последующей активацией STAT3 и экспрессией Mcl-1. Активация сигнального пути JAK/STAT выявлена в 50% случаев ВПХЦР. Участники IL-6/JAK/STAT пути рассматриваются в качестве мишеней для молекулярно направленной терапии. Однако в настоящее время возможность применения антител к IL-6 в терапии ВПХЦР нуждается в дальнейшем изучении [240].

Описанные выше исследования в области разработки и поиска мишеней для таргетной терапии демонстрируют потенциал персонализированного подхода в

лечении злокачественных опухолей на основе данных молекулярного профилирования опухолевой ткани.

### **1.7 Прогностические шкалы оценки выживаемости при внутripеченочном холангиоцеллюлярном раке**

Учитывая, что неoadъювантная химиотерапия и лучевая терапия не обладают достаточной эффективностью в отношении общей выживаемости у больных ВПХЦР [221], а основным методом лечения являются резекционные вмешательства на печени, крайне важным является оценка прогностических факторов выживаемости.

Актуальным является разработка прогностических номограмм и шкал для оценки прогноза выживаемости пациентов после хирургического вмешательства с применением анализа клиничко-демографических показателей пациента, а также морфологических и молекулярно-генетических характеристик опухоли [167].

В настоящее время различными авторами предложено несколько прогностических номограмм. По данным Yen C.N. и соавт. [173] однофакторный анализ выявил 10 значимых прогностических факторов, таких как сывороточный  $CEA \geq 30$  нг/мл, наличие клинической симптоматики, внутripротоковая папиллярная муцинозная опухоль, гепатолитиаз, размер опухоли  $\geq 4,6$  см, состояние края резекции, наличие сопутствующей патологии, степень дифференцировки опухоли, сосудистая инвазия и наличие метастазов в лимфатических узлах. И хотя, после проведенного в дальнейшем регрессионного Cox анализа, не все данные факторы сохранили значимость, авторы рекомендуют включать все 10 факторов в шкалу прогноза.

В работе Dhanasekaran R. и соавт. показано, что согласно результатам многофакторного анализа, факторами, ассоциированными с отдаленными исходами, были стадия заболевания и наличие микрососудистой инвазии [70].

Однако стоит отметить, что номограммы для оценки прогноза имеют ограничения. Одним из них является то, что данные модели не позволяют объяснить всю полноту имеющейся вариабельности; об этом говорит различие

значений индекса конкордантности. Вариабельность между номограммой и полученными результатами может быть частично обусловлена различиями в исследуемых группах. Также стоит отметить, что в предложенных ранее прогностических шкалах не учитываются молекулярные маркеры рецидива и не оцениваются результаты генетического профилирования, т.е. современные возможности диагностики, ставшие доступными в последние годы.

Таким образом, актуальной проблемой является отсутствие в настоящее время прогностической шкалы, позволяющей оценить прогноз выживаемости пациентов в послеоперационном периоде с учетом клинических и молекулярно-генетических факторов.

С учетом существования эндемичных факторов риска, особенностей патогенеза заболевания в зависимости от региона, актуальной остается разработка эффективных методов прогнозирования для пациентов внутривисочечной холангиокарциномой в российской популяции.

Таким образом, в заключении данной главы хотелось бы отметить, что ВПХЦР – крайне агрессивная злокачественная опухоль, и современный подход в лечении данной опухоли все больше учитывает и опирается на молекулярно-биологические особенности. Перспективным является молекулярно-генетическое исследование опухоли с целью выявления различных генетических альтераций. Результаты этих исследований должны быть учтены при диагностике, стадировании и составлении схемы лечения пациентов с ВПХЦР. Эти исследования позволят выявить возможные мишени (специфические мутации) для персонализированной таргетной терапии. В настоящее время потенциальные мишени для таргетной терапии ВПХЦР включают мутации генов *BRAF*, *FGFR*, *IDH1*, *BRCA1*, *PIK3CA*, *NTRK*, микросателлитную нестабильность. Продолжаются исследования по оценке эффективности различных ингибиторов, направленные на другие альтерации. В частности, изучается влияние ингибиторов MEK в сочетании с другими препаратами при мутации гена KRAS [88].

Особый интерес представляют поиски новых методов ранней диагностики ВПХЦР, эффективного сочетания хирургии и химиотерапии. Проблему лечения

резектабельного ВПХЦР следует решать сочетанием хирургического лечения и лекарственной терапии, основанной на результатах молекулярно-генетического профилирования опухоли.

Таким образом, учитывая существующие в настоящее время неудовлетворительные результаты лечения ВПХЦР, актуальным является выявление и изучение молекулярно-генетических маркеров (мутаций), оказывающих влияние на эффективность проводимого комбинированного (хирургического и адъювантного противоопухолевого) лечения и оптимизация, с учетом этого, схемы ведения пациентов в послеоперационном периоде.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 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- $\beta$  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.

## 2.2 Характеристика групп обследованных пациентов

Исследование выполнено в 3 этапа.

На 1 этапе с целью оценки непосредственных и отдаленных результатов хирургического лечения в исследование включены 79 пациентов, находившихся на обследовании и лечении в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского с установленным морфологически диагнозом внутripеченочный 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. Распределение больных по возрасту и полу представлено в таблицах. Соотношение мужчин и женщин составило 24 (30%) и 55 (70%) соответственно (Таблица 1). Возраст больных варьировал от 36 до 82 лет (средний возраст – 60,3года) (Таблица 2).

Таблица 1 — Распределение пациентов по полу

Пол	N
Мужчины	24 (30%)
Женщины	55 (70%)
Всего	79 (10%)

Таблица 2 — Распределение больных по возрасту

Возраст (ВОЗ)	Всего=79, n	%
18-44 лет	12	15
45-59 лет	16	20
60-74 лет	47	60
75-90 лет	4	5

Общая характеристика пациентов в зависимости от локализации опухоли, необходимости выполнения билиарной декомпрессии в предоперационном периоде, частоты повышения онкомаркера СА 19-9, типов выполненных резекций

печени, а также степени радикальности проведенных операций представлены в Таблице 3.

Таблица — 3 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.

### 2.2.1 Жалобы и клиническое состояние

Клинические симптомы исследуемых групп больных ВПХЦР были весьма неспецифичны и зависели в большей степени от локализации и стадии опухолевого процесса. При этом, как правило, преобладали общесоматические, диспепсические расстройства. Этим, в частности, обусловлена поздняя обращаемость больных в лечебные учреждения в поздних стадиях, когда опухоль уже является нерезектабельной. Как правило, основным симптомом больных был дискомфорт и тупая боль в правом подреберье. Данные симптомы имели место в 68 случаях (86%). Дефицит массы тела был выявлен у 33 больных (41,7%). Клиническая симптоматика была более выраженной при локализации и росте опухоли в сторону ворот печени и компрессии желчных протоков. При этом наиболее патогномичным симптомом центральной локализации опухоли была механическая желтуха. Она была выявлена у 10 пациентов (12,6%). Таким пациентам потребовалась декомпрессия (антеградная или ретроградная) в предоперационном периоде с целью купирования билиарной гипертензии и желтухи. У 3 больных были признаки билиарной гипертензии без желтухи. Этим больным оперировали без предварительной декомпрессии. Основные симптомы больных показаны Таблице 4.

Таблица 4 — Основные клинические симптомы больных с ВПХЦР

Симптом	Количество больных (n = 79)	
	Абсолютные числа	%
Боль в правом подреберье	68	86%
Диспепсические расстройства	23	29,1%
Снижение веса	33	41,7%
Механическая желтуха	10	12,6%
Кожный зуд	13	16,4%
Общесоматические расстройства	27	34,1%
Анемия	38	48,1%

### 2.2.2 Инструментальные методы диагностики

Всем больным для изучения анатомо-топографических характеристик опухоли и распространенности опухолевого процесса, вовлеченности магистральных сосудов, наличие метастазов в регионарных, юкстарегинарных, отдаленных лимфатических узлах, а также отдаленного метастазирования в других органах выполняли УЗИ, МСКТ, МРТ в сочетании с магнитно-резонансной холангиопанкреатографией (МРХПГ). Необходимо сказать, в некоторых случаях, у больных с наличием холангиостомических дренажей, установленных на первом этапе при наличии механической желтухи, выполнялась прямая холангиография. У остальных больных анатомию желчных протоков оценивали на МРХПГ, которая дает достаточно исчерпывающую информацию об анатомии желчных протоков. У ряда больных также выполнялась ретроградная холангиография при установке билиарных стентов во время билиарной декомпрессии.

УЗИ выполнялось в В-режиме с обязательным дуплексным сканированием сосудов печени (сочетание В-режима, цветового, энергетического доплеровского картирования и импульсной доплерографии) секторными и конвексными датчиками с частотой 3,5-5 МГц. До 2018 года включительно исследование проводилось с помощью аппарата Voluson 730 PRO EXPERT GE Medical system (производство Германия), а с 2019 года использовался аппарат PHILIPS EPIQ 7 (производство Нидерланды).

Мультиспиральная КТ проведена всем пациентам (100%) на томографе Philips Brilliance CT 64 и Philips Brilliance iCT 256 в соответствии со стандартными протоколами исследования органов в брюшной полости. Вначале проводилось нативное сканирование с последующим внутривенным болюсным введением йодсодержащего контрастного препарата через периферический катетер, установленный в кубитальную вену с помощью автоматического инъектора. Скорость введения контрастного препарата 4 мл/с. С целью контрастного усиления были использованы неионные контрастные препараты с

высокой концентрацией йода. Объем вводимого контрастного вещества рассчитывали исходя из массы тела пациента (1,5 мл/кг), и, как правило, не превышал 100 мл. Границами сканирования были краниально – правый купол диафрагмы, каудально – малый таз на уровне гребней подвздошных костей. После введения контрастного препарата оценивались артериальная, портальная и отсроченная фазы исследования.

МРТ выполняли у 74 пациентов (95%) на аппарате «Achieva» (3,0 T) фирмы Philips с использованием 16 канальной гибкой радиочастотной катушки SENSE XL Torso. Практически во всех случаях МРТ сочетали с МРХПГ. Исследование выполнялось в положении пациента лежа на спине в краниокаудальном направлении. Как правило, использовали поперечные и фронтальные срезы. Перед исследованием больному давали выпить 200 мл негазированной воды. Исследование проводилось с выполнением T1 и T2 с подавлением и без подавления жирового сигнала. Для визуализации более мелких очаговых образований и их дифференциальной диагностики в исследование включали диффузно-взвешенную последовательность (режим DWI). Внутривенное контрастное усиление, как правило, не выполнялось. Изменение интенсивности сигнала от патологических образований оценивали относительно здоровой паренхимы печени.

### **2.2.3 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 большие 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 стандартная гемигепатэктомия. У 25 пациентов (53%) была произведена

расширенная 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.

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.

В раннем послеоперационном периоде летальный исход имел место в 2 (2,2%) наблюдениях 1 группы, что было обусловлено развитием острой печеночной недостаточности.

Во всех случаях операция начиналась с верхнесрединной лапаротомии, и только после тщательной ревизии брюшной полости при отсутствии признаков нерезектабельности опухоли и отдаленных метастазов (к отдаленным метастазам приравниваются метастазы в лимфатических узлах вдоль аорты, нижней полой вены, брыжеечных сосудов), разрез продлевался направо к XII ребру (J-образная лапаротомия). При необходимости разрез может быть расширен (разрез тип «мерседес»).

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 паракаваальных, 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.

Ниже изложены технические аспекты выполненных операций.

### **2.2.3.1 «Истинно» анатомические резекции печени**

#### **Правосторонняя гемигепатэктомия**

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. СтПГГЭ выполнена у 10 больных (14,9%) при локализации опухоли в 5,6,7,8 сегментах печени.

Залогом успешного выполнения «больших» резекций печени является адекватная мобилизация. При выполнении правосторонней гемигепатэктомии выполнялась полная мобилизация правой доли печени с пересечением круглой, серповидной, правой треугольной венечной связок, что обеспечивает адекватный доступ к коротким печеночным венам. Они перевязывались, клипировались и пересекались. Между двумя зажимами пересекалась связка Макуучи, после чего становится доступна правая печеночная вена. Последняя выделялась и на нее накладывался турникет, но не перевязывалась до перевязки правой воротной вены во избежание «портального удара», отека паренхимы и усиления кровотечения во время разделения паренхимы.

Во всех случаях после мобилизации печени выполнялось интраоперационное ультразвуковое исследование (ИОУЗИ), после чего, определялась и намечалась проекция средней печеночной вены на диафрагмальную поверхность печени. Плоскость предстоящей резекции, как правило, намечалась отступая от этой линии на 5 мм справа. В дальнейшем выполнялась лимфаденэктомия из гепатодуоденальной связки (ГДС) и общей печеночной артерии (D2). Раздельно выделялись и пересекались пузырный проток и артерия. При отсутствии технических трудностей холецистэктомия не проводилась (удаляется единым блоком с правой долей печени). Следующий этап – воротный, заключался в раздельной перевязке правой ветви печеночной артерии и правой ветви воротной вены, после чего становится видна отчетливая линия демаркации, что является истинной границей правой и левой долей печени. Превентивно, для предотвращения кровотечения во время трансекции паренхимы печени, накладывали турникет на гепатодуоденальную связку. Однако, прием Прингла выполнялся не рутинно, а по требованию при возникновении кровотечения. В дальнейшем надсекалась глиссонова капсула электроножом, с помощью биполярного пинцета по намеченной линии с орошением выполнялось разделение паренхимы печени с перевязкой, клипированием, пересечением и коагуляцией трубчатых структур по плоскости резекции. На плоскости резекции остающейся левой доли печени остается (сохраняется) основной ствол срединной печеночной вены (перевязываются только ее ветви, идущие к удаляемой части печени).

### **Расширенная правосторонняя гемигепатэктомия**

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.

рПГЭ нами выполнялась в 10 случаях (15%); во всех случаях имело место распространение опухоли на IV сегмент. Рассмотрим технические аспекты рПГЭ с резекцией внепеченочных желчных протоков.

Мобилизация правой доли печени и перевязка коротких печёночных вен выполняется как и при стандартной правосторонней гемигепатэктомии. С помощью ИОУЗИ определяется и намечается проекция срединной печеночной вены на диафрагмальную поверхность печени, а также плоскость резекции печени (рисунок 1).



Рисунок 1 — Интраоперационное фото. Определяется демаркационная линия после перевязки правой сосудисто-секреторной ножки в воротах печени (указана стрелками). Намечена плоскость резекции печени

Выполняется лимфаденэктомия из ГДС и общей печеночной артерии в объеме D2. Выделяется общий желчный проток, правая и левая ветви печеночной артерии, ствол и правая и левая ветви воротной вены (рисунок 2).

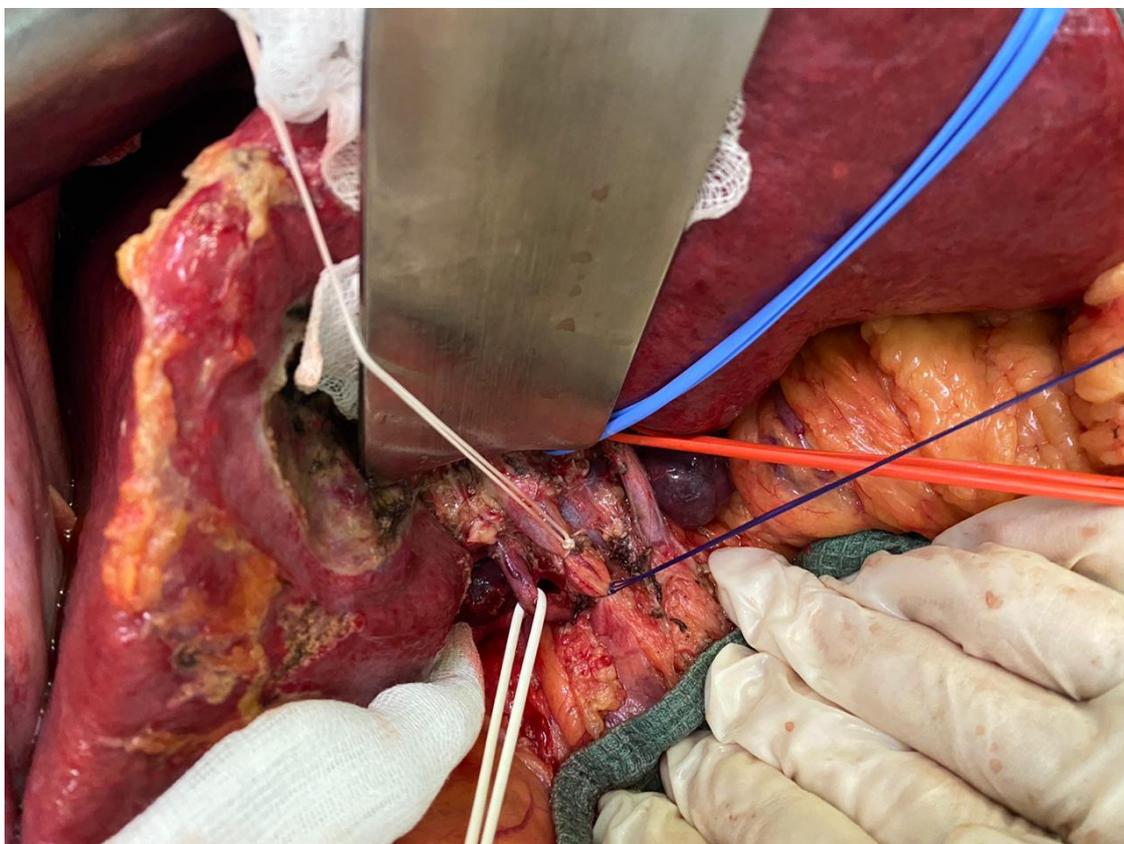


Рисунок 2 — Интраоперационное фото. Выделены общий желчный проток, правая и левая ветви печеночной артерии

Общий желчный проток пересекается в супрадуоденальном отделе и выделяется до левого печеночного протока. Установленный ранее дренаж в общий желчный проток облегчает выделение последнего. В дальнейшем перевязывается и пересекается правая печеночная артерии и правая ветвь воротной вены. Также перевязываются ветви, идущие к IV сегменту. При возникновении технических трудностей элементы сосудисто-секреторной ножки IV сегмента перевязываются интрапаренхиматозно. Выделяется и пересекается левый желчный проток. Выделяется и берется на держалку правая печеночная вена. После надсечения Глиссоновой капсулы в 5 мм кнаружи от серповидной связки к устью правой печеночной вены с помощью биполярного пинцета с

орошением выполняется разделение паренхимы, таким образом, выполняется правосторонняя гемигепатэктомия с IV (или IVb) сегментом (рисунок 3). В процессе трансекции паренхимы перевязываются и клипируются все трубчатые структуры. В дальнейшем прошивается, перевязывается правая печеночная вена. При выполнении расширенной правосторонней гемигепатэктомии перевязывается также срединная печеночная вена, однако данная манипуляция выполняется интрапаренхиматозно во избежание повреждения левой печеночной вены (в большинстве случаев срединная печеночная вена впадает в устье левой печеночной вены). В случае выполнения рПГЭ за счет IVb сегмента ствол срединной печеночной вены, как правило, сохраняется.

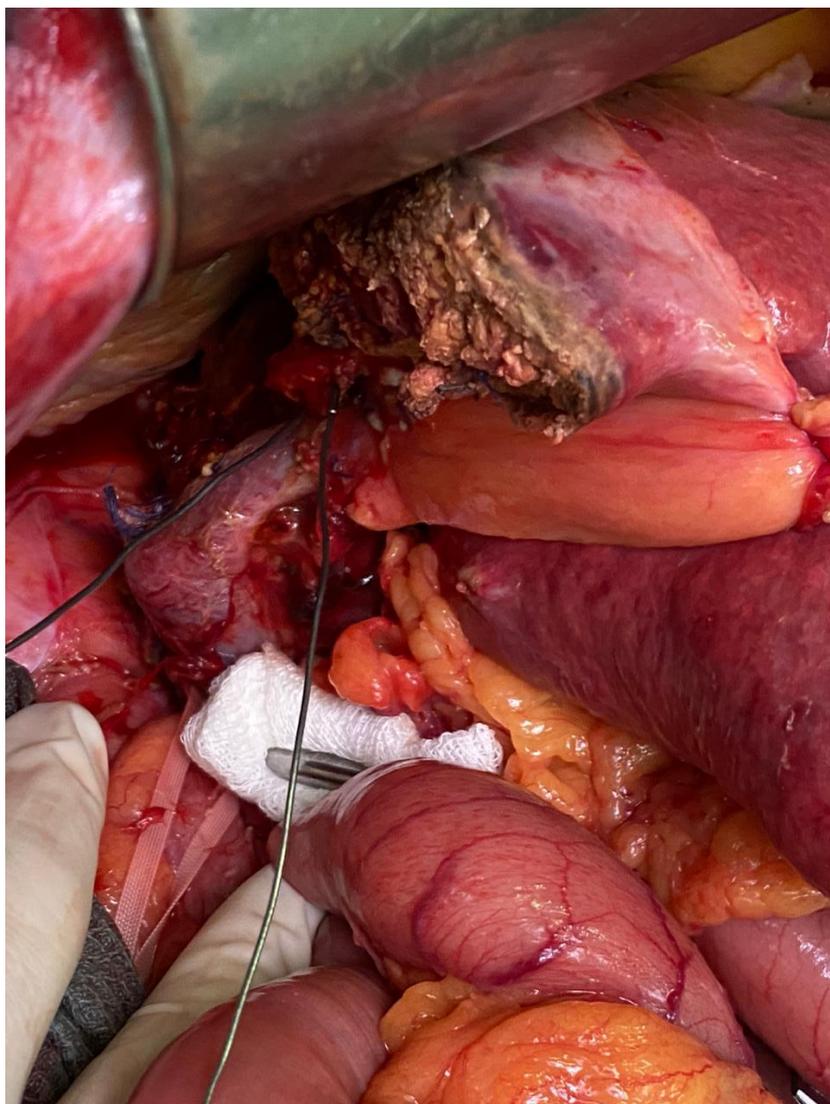


Рисунок 3 — Интраоперационное фото. Окончательный вид интраоперационного поля после удаления макропрепарата. Зонд введен в просвет левого печеночного протока

Последний этап – реконструктивный. Ниже мезоколон в 40 см от связки Трейтца тощая кишка, изолированная по Rux-en- Y, проводится через мезоколон справа от двенадцатиперстной кишки и анастомозируется с левым печеночным протоком (однорядный шов) (рисунок 4). В 60 см от гепатикоеюноанастомоза накладывается терминолатеральный энтеро-энтероанастомоз.

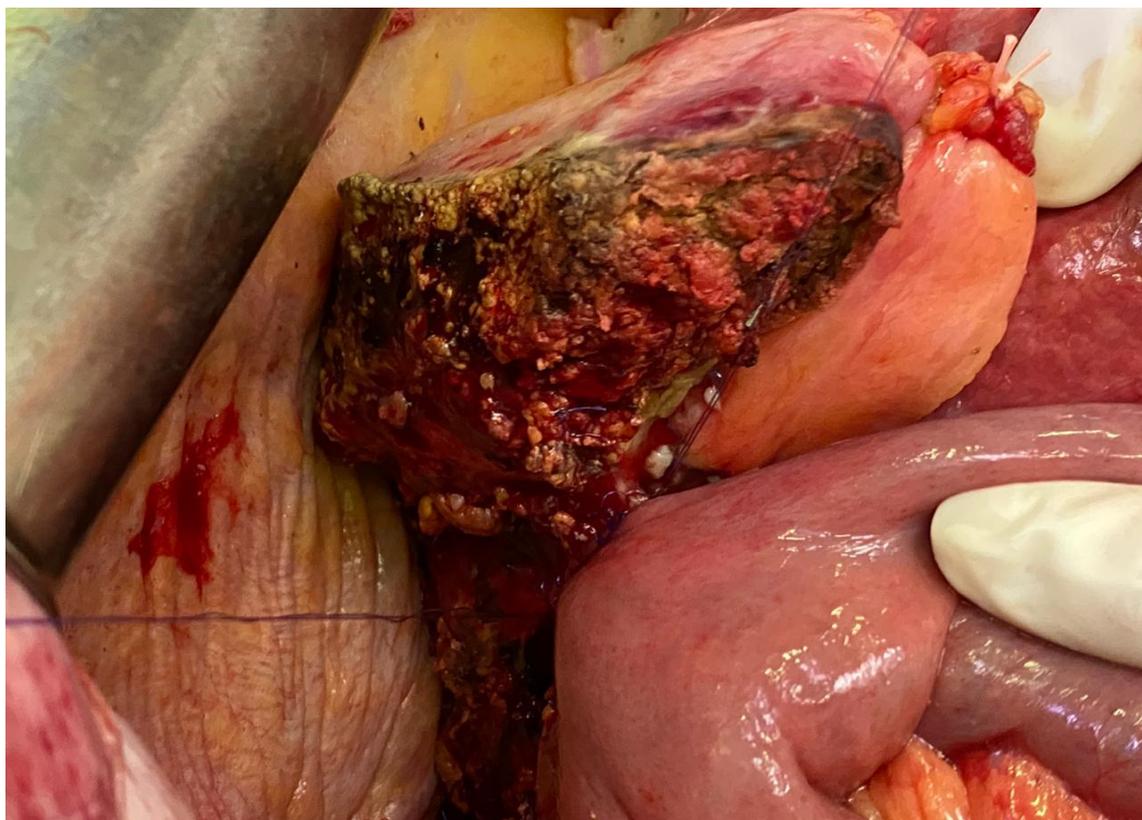


Рисунок 4 — Интраоперационное фото. Реконструктивный этап операции: наложение соустья между левым печеночным протоком и тощей кишкой

### **Левосторонняя гемигепатэктомия**

Показанием к выполнению стандартной левосторонней гемигепатэктомии (ст.ЛГГЭ) является локализация опухоли в левой доле печени, как правило, в IV сегменте (изолированная сегментэктомия IV при внутривенном холангиоцеллюлярном раке практически не выполняется) или поражение II и/или III сегмента с распространением на IV сегмент с вовлечением в опухолевый процесс левой печеночной вены и/или левой ветви воротной вены.

Ст.ЛГГЭ выполнена у 8 больных (12%) при локализации опухоли во 2,3 и 4 сегментах печени. В 9 случаях (13,4%), в связи с распространением опухоли в 5 и 8 сегменты печени выполнялась расширенная левосторонняя гемигепатэктомия (рЛГГЭ). В 3 случаях вследствие обструкции внепеченочных желчных протоков, резекция печени сочеталась с резекцией внепеченочных желчных протоков. Остановимся на технических аспектах данной операции.

При выполнении левосторонней гемигепатэктомии выполнялась мобилизация правой и левой долей печени путем рассечения правого и левого треугольных, коронарной, серповидной и круглой связок. Если планируется также удаление 1 сегмента перевязываются короткие печеночные вены. Во всех случаях предварительно выполнялась холецистэктомия.

С помощью ИОУЗИ намечалась проекция правой печеночной и средней печеночной вен и границы разделения паренхимы печени (рисунок 5).

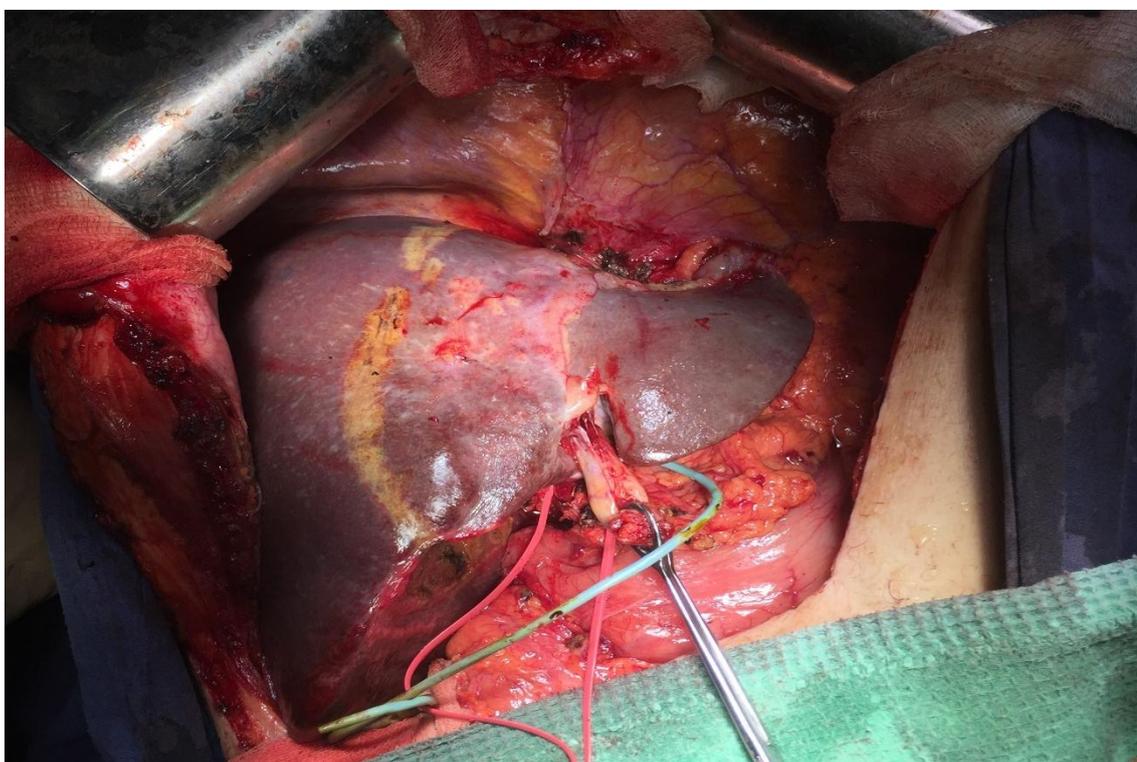


Рисунок 5 — Интраоперационное фото. Намечена плоскость резекции печени

Выполнялась лимфаденоэктомия в объеме D2. Важным является то обстоятельство, что при локализации опухоли в левой доле печени регионарными являются лимфатические узлы по ходу ГДС, общей печеночной артерии, малого

сальника и поддиафрагмальные лимфатические узлы. Вследствие этого данные группы лимфатических узлов должны быть удалены. Гепатодуоденальная связка превентивно берется на турникет. В дальнейшем перевязывались, прошивались и пересекались левые ветви печеночной артерии и воротной вены. Во избежание повреждения правой ветви печеночной артерии во всех случаях ее брали на держалку (рисунок 6).

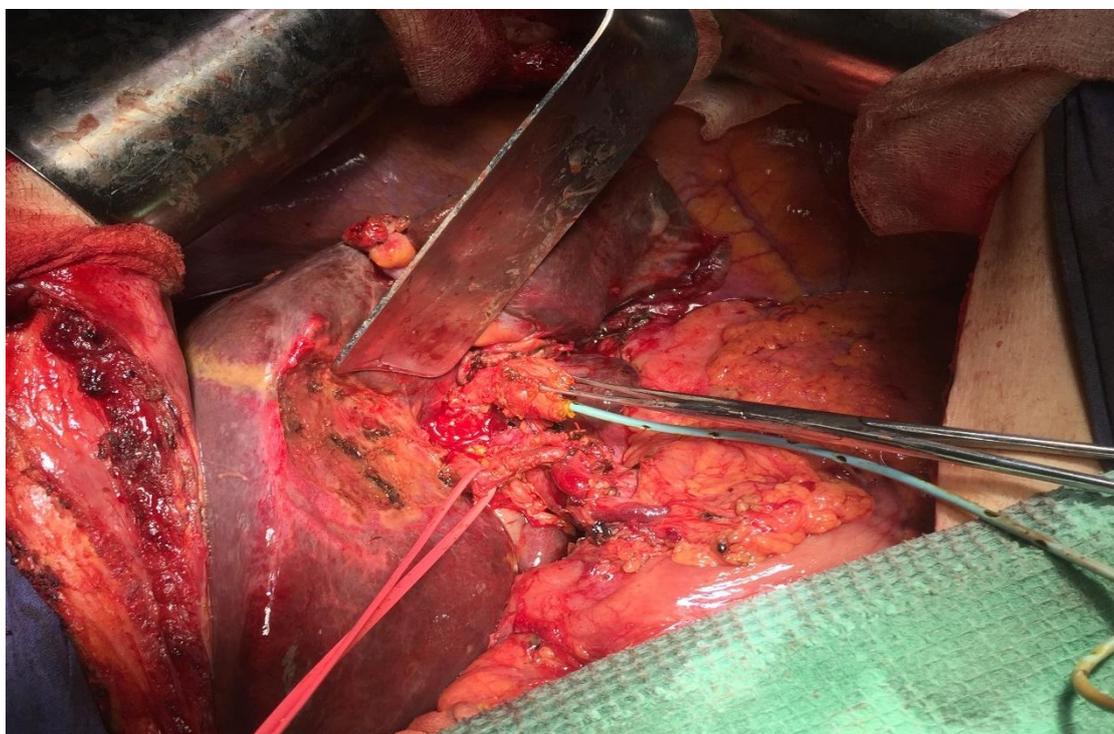


Рисунок 6 — Интраоперационное фото. Выполнена лимфодиссекция из гепатодуоденальной связки. Правая печеночная артерия взята на держалку. В просвете правого долевого протока определяется дренаж

Если выполнялась расширенная левосторонняя гемигепатэктомия, перевязывались сегментарные ветви, идущие в V и VIII сегменты печени (данные

ветви могут быть перевязаны интрапаренхиматозно). У основания выделялась и перевязывалась левая печеночная вена. При выполнении расширенной левосторонней гемигепатэктомии перевязывалась также срединная печеночная вена. После надсечения глиссоновой капсулы по границе демаркационной линии на 5 мм внутрь от срединной печеночной вены (при выполнении расширенной левосторонней гемигепатэктомии глиссонова капсула надсекается на 5 мм кпереди от правой печеночной вены) по намеченным границам с помощью биполярного пинцета с орошением физиологическим раствором выполняется разделение паренхимы, и таким образом, выполняется левосторонняя гемигепатэктомия с удалением или без него 1 сегмента (в некоторых случаях удаляется его левая порция). Трубоччатые структуры в плоскости резекции перевязываются и клипируются (рисунок 7).

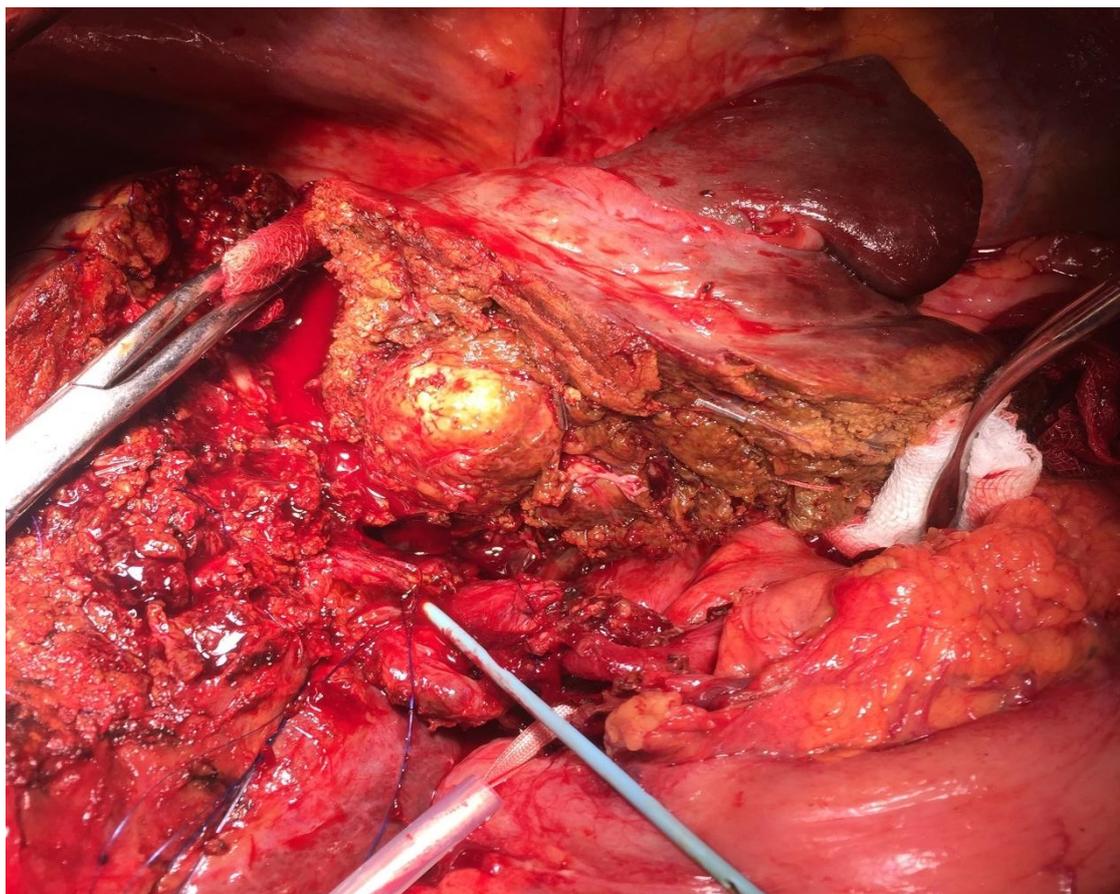


Рисунок 7 — Интраоперационное фото. Трансекция паренхимы печени

При вовлечении в опухолевый процесс конfluence общего печеночного протока, а также при перидуктальном типе роста холангиокарциномы резекция печени дополнялась также резекцией внепеченочных желчных протоков. При этом гепатикохоледох пересекался на уровне правого долевого протока выше опухоли или выше на уровне секторальных. Дистально общий желчный проток пересекается в супрадуоденальном отделе. Заключительный этап операции заключался в наложении реконструктивного билиодигестивного анастомоза на выключенной по Ру петле тонкой кишки (рисунок 8).

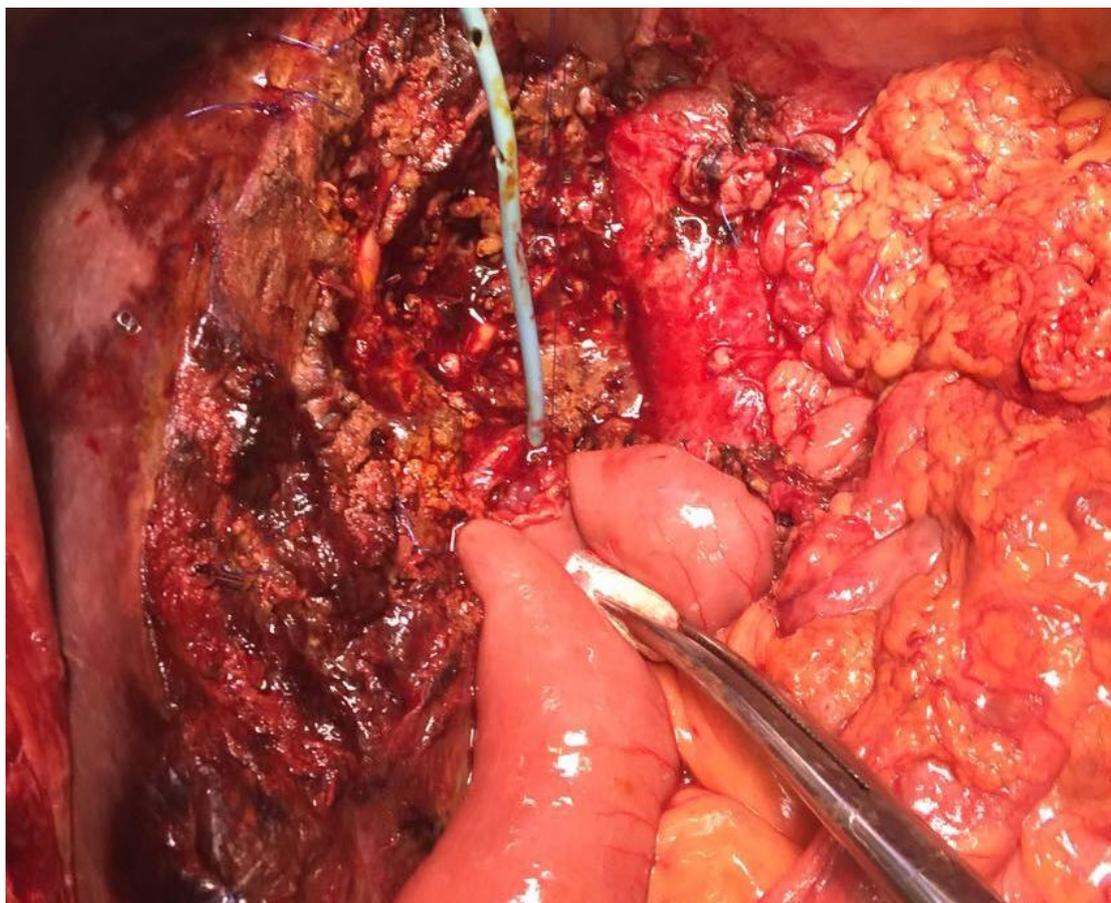


Рисунок 8 — Интраоперационное фото. Заключительный этап операции: наложение анастомоза между правым печеночным протоком и тощей кишкой

### **2.2.3.2 Сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук- направленного подхода**

Сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук-направленного подхода выполнены 20 пациентам. Если при «истинно» анатомических резекциях печени трансекция паренхимы выполняется 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 играет интраоперационное ультразвуковое исследование.

При ВПХЦР изолированное удаление одного сегмента мы не выполняли. В большинстве случаев выполняется резекция двух-трех смежных сегментов

печени. При этом показаниями к выполнению сегментоориентированных резекций печени при ВПХЦР считали опухоли без вовлечения конfluence секторальных сосудисто-секреторных элементов. Так, резекция 4,5,6 сегментов печени выполнена в 6 случаях (9%), бисегментэктомия 5,6 — в 7 случаях (10,4%) (технические особенности этих операций мало отличаются от резекции 4,5,6 сегментов печени). Резекция 6,7 сегментов печени выполнена в 5 случаях (7,5%). Бисегментэктомия 2,3 выполнена в 2 случаях (3%).

Ниже изложены технические особенности этих операций.

### **Резекция 4,5,6 сегментов печени**

Показанием к выполнению резекции 4,5,6 сегментов печени, как правило, являлись опухоли в пределах этих сегментов при отсутствии инвазии в правую долевую сосудисто-секреторную ножку (рисунок 9).

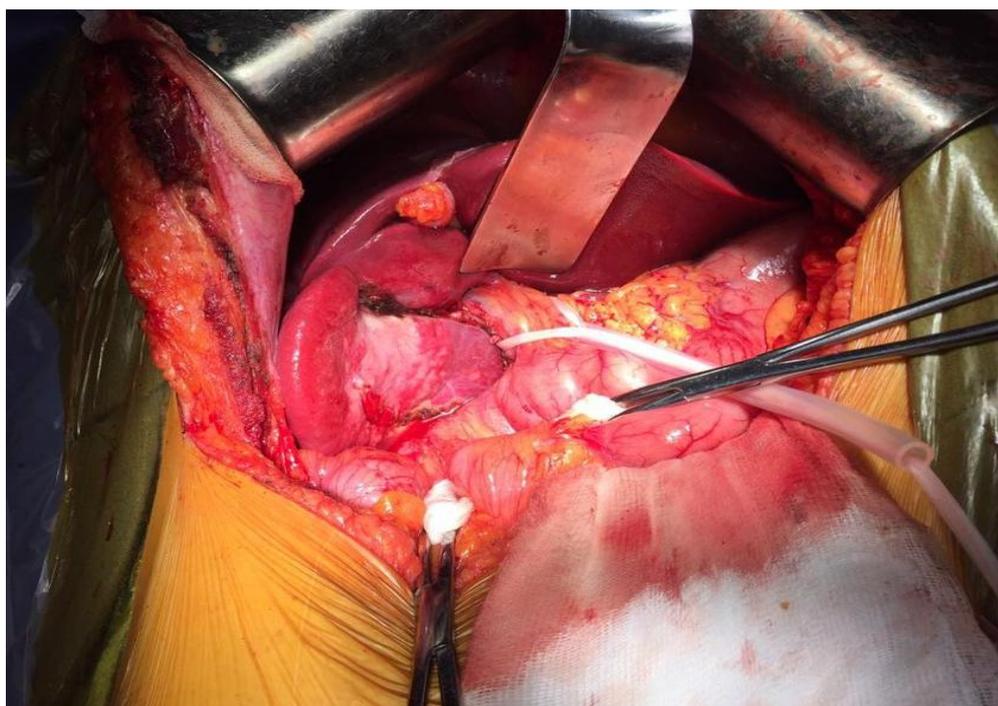


Рисунок 9 — Интраоперационное фото. В 5 сегменте печени определяется опухоль, не выходящая за пределы сегмента (показана стрелкой).

ГДС взят на турникет

В отношении 4 сегмента при выполнении данной операции имеется в виду резекция его передней части (4б сегмент). Изолированное удаление 4 сегмента

при холангиоцеллюлярном раке мы не выполняли. При поражении задней части 4 сегмента (4а сегмент), как правило, выполняли левостороннюю гемигепатэктомию. После выполнения интраоперационного ультразвукового исследования намечали проекции порталных и кавальных структур и опухоли. В дальнейшем в процессе трансекции паренхимы печени выполнялась отдельная перевязка соответствующих сегментарных артерий и ветвей воротной вены в воротах печени, после чего, становится отчетливо видна демаркационная линия, что соответствует истинным границам данных сегментов. У наших больных резекция данных сегментов выполнено в 10 случаях (15%).

Технические аспекты данной операции заключаются в следующем. Первым этапом выполняется отдельная перевязка пузырного протока и артерии. Желчный пузырь предпочтительно удалять вместе с удаляемой паренхимой печени. При технических трудностях допускается удаление желчного пузыря. Выполняется лимфаденэктомия в объеме D2 (лимфатические узлы ГДС, общей печеночной артерии). В дальнейшем выполняется трансекция паренхимы печени по линии демаркации с использованием биполярного коагулятора и орошения. В плоскости резекции печени перевязывают и/или клипируют все трубчатые структуры. При технических трудностях при обработке сегментарных сосудисто-секреторных элементов в воротах печени, а также при отсутствии возникновения демаркационной линии допустимо выполнение фиссуральной резекции 4б,5,6 сегментов печени (условно анатомическая резекция печени) по анатомическим ориентирам. При этом линия резекции ограничена слева пупочной фиссурой, сверху линию разреза ориентируют на проекцию ворот печени на диафрагмальную поверхность, который продолжают до правого края печени. Нижней границей резекции являются ворота печени. В процессе разделения паренхимы печени идентифицируют и перевязывают сегментарные сосудисто-секреторные структуры соответствующих сегментов. На рисунке 10 показан вид операционного поля после резекции 4,5,6 сегментов печени.

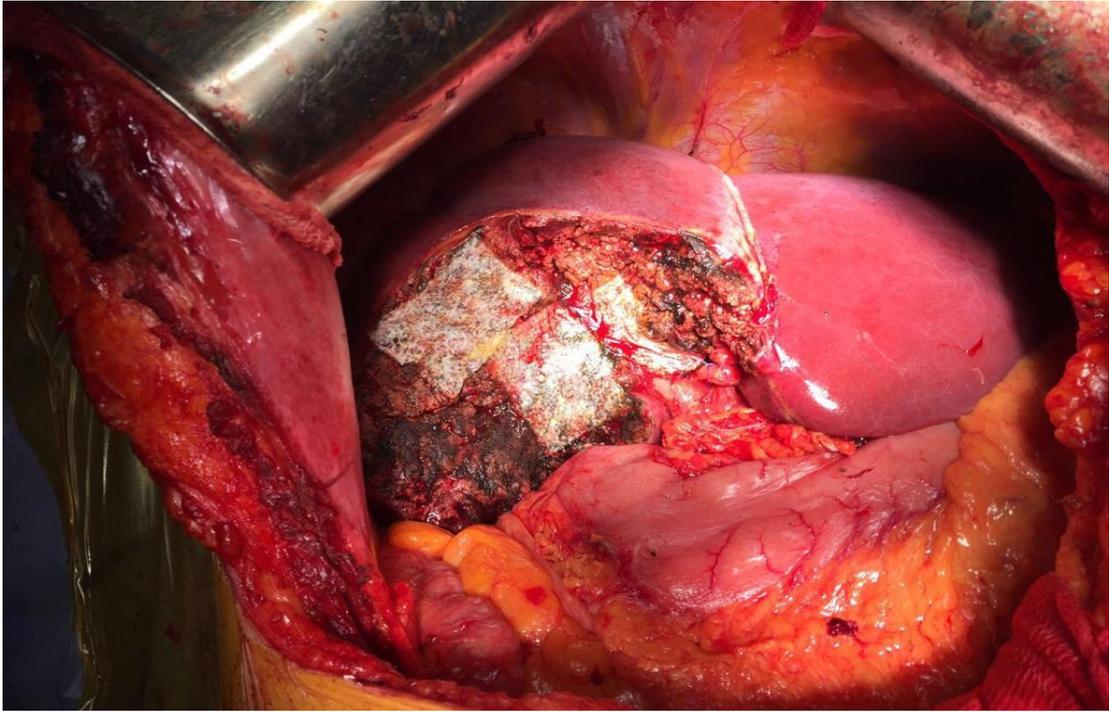


Рисунок 10 — Вид операционного поля после выполнения сегменториентированной резекции 4,5,6 сегментов печени

### **Резекция 6,7 сегментов печени**

Анатомическая резекция 6,7 сегментов печени является сложным вмешательством. При выполнении данного вмешательства необходима мобилизация правой доли печени как при правосторонней гемигепатэктомии – пересекалась правая треугольная, венечная, серповидная связки; прошивались, перевязывались и пересекались идущие к I сегменту короткие печеночные вены, а также пересекалась связка Макуучи. Если нет технических трудностей правая печеночная вена берется на держалку (при технических трудностях правая печеночная вена перевязывается интрапарнехиматозно). При ВПХЦР, во всех случаях, при выполнении бисегментэктомии 6,7 показана холецистэктомия. Это облегчает доступ к сосудисто-секреторным элементам правого заднего сектора. Выполняется лимфаденоэктомия из ГДС, а также удаляются лимфатические узлы вокруг общей печеночной артерии (лимфаденэктомия D2 – стандарт для ВПХЦР правой доли печени). ГДС берется на турникет, при этом маневр Прингла выполняется не рутинно, а по требованию. Под ИОУЗИ производилась разметка средней и правой печеночных вен, границ опухоли и граница резекции.

Перевязывались и пересекались секторальные ветви воротной вены и печеночной артерии, идущие к правому заднему сектору. По линии демаркации с помощью биполярного коагулятора с орошением (или с помощью различных аппаратов для деструкции паренхимы) выполнялась резекция 6-7 сегментов печени в пределах здоровой ткани. Поэтапно лигировались трубчатые структуры по плоскости резекции.

### **Резекция 2,3 сегментов печени (бисегментэктомия 2,3)**

Показанием к выполнению резекции 2,3 сегментов печени являются опухоли, не выходящие за пределы данных сегментов (располагающиеся левее от серповидной связки). Мобилизация левой доли печени как и при левосторонней гемигепатэктомии. Выполняется холецистэктомия, после чего, удаляются лимфатические узлы ГДС и малого сальника (лимфаденэктомия D2 – стандарт при ВПХЦР левой доли печени). Накладывается турникет на ГДС. Под ИОУЗИ намечаются границы опухоли, левой печеночной вены. В воротах печени перевязываются и пресекаются сосудисто-секреторные элементы к левому латеральному сектору, после чего, появляется отчетливая демаркационная линия. Во избежание повреждения, так называемого синуса Рекса, (вертикальная часть левой портальной вены, куда впадает облитерированная пупочная вена, идущая по нижнему краю круглой связки печени) резекция печени выполняется по линии, намеченной на 0.5-1,0 см внутрь от линии демаркации. Таким образом, выполняется анатомическая сегменториентированная резекция 2,3 сегментов печени с лигированием всех трубчатых структур.

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.

Выбор объема резекции печени, непосредственные результаты оперативного лечения, а также анализ послеоперационной летальности подробно изложены в следующей главе.

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%) 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 криоаблацией, у 6 пациентов (50%) выполнена биопсия опухоли для верификации диагноза и последующей химиотерапии. Результаты лечения этих пациентов описаны в главе 4. Все виды выполненных оперативных вмешательств представлены в таблице 5.

Таблица 5 — 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%)

#### 2.2.4 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 гг. 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). АПХТ была рекомендована по следующей схеме:

GEMCIS: Гемцитабин  $1000 \text{ мг/м}^2$  в/в кап. 1,8 дни 21–28-дневного цикла + Цисплатин  $25 \text{ мг/м}^2$  в/в кап. 1,8 дни 21–28-дневного цикла - при отсутствии прогрессирования заболевания и удовлетворительной переносимости – 3-6 курсов.

GEMOX: Гемцитабин  $1000 \text{ мг/м}^2$  в/в в 1-й и 8-й дни + оксалиплатин  $100 \text{ мг/м}^2$  в/в 2-часовая инфузия во 2-й день каждые 21 день

Контрольные обследования проводились после 3-х курсов ХТ: МСКТ органов грудной клетки, брюшной полости с внутривенным контрастированием, гастроскопия, анализ крови на онкомаркеры. В дальнейшем в зависимости от результатов иммуногистохимического исследования в некоторых случаях проводилась коррекция схемы химиотерапии. В случае прогрессирования заболевания после 3-6 курсов больным проводилась реиндукция 1-й линии ПХТ или рекомендовалась вторая линия ПХТ и одновременно назначалось (по возможности) молекулярно-генетическое исследование с последующей коррекцией схемы химиотерапии.

В качестве второй линии химиотерапии назначалась схема FOLFOX (Оксалиплатин  $100 \text{ мг/м}^2$  в 1-ый день+ Лейковарин  $200 \text{ мг/м}^2$  внутривенно в течение 2 часов+5-Фторурацил  $400 \text{ мг/м}^2$  болюсно+5-Фторурацил  $600 \text{ мг/м}^2$  внутривенно в течение 2 часов в 1 и 2-й день) 1 раз в 14 дней с последующим контрольным обследованием через 3-6 курсов.

Пациентам с наличием послеоперационных осложнений, отягощающих их соматическое состояние (ECOG3), при отсутствии признаков прогрессирования заболевания по данным контрольного обследования, в сроки после операции не более 12 нед. рекомендовалась проведение адьювантной монокимиотерапии (АМХТ) по схеме: Капецитабин  $1250 \text{ мг/м}^2$  2 раза/сут. с 12 часовым интервалом через 1 час после еды, внутрь в 1-14й дни 21-дневного цикла (14 дней приема — 7 дней перерыва) с контрольным обследованием 1 р/3 мес. (КТ или ПЭТ-КТ, онкомаркеры, гастроскопия). При отсутствии признаков прогрессирования и удовлетворительной переносимости рекомендовалось проведение до 8 курсов АМХТ.

В случае выявления прогрессирования по данным контрольного обследования перед началом химиотерапии, рекомендовано проведение ПХТ 1й 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*).

### 2.2.5 Гистологическое и иммуногистохимическое исследование

Морфологическая верификация ВПХЦР при наличии резектабельной опухоли в предоперационном периоде у наших пациентов не являлась обязательной опцией. Однако, при неоперабельных случаях в связи с наличием тяжелых сопутствующих заболеваний, а также при нерезектабельной опухоли, морфологическая верификация была обязательна для проведения ПХТ в дальнейшем.

Материал, полученный после резекции печени, подвергался гистологическому и иммуногистохимическому 52 (78% случаев) исследованию. При этом были определены размер и количество опухолей, степень дифференцировки, состояние края резекции, наличие инвазии капсулы печени сосудистой и лимфососудистой инвазии, а также наличие метастазов в региональных лимфатических узлах.

Операционный материал оценивали макроскопически и фотографировали, фиксировали в 10% забуференном формалине (pH 7,0–7,2). Обезвоживание препаратов проводили в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафиновые блоки (таблица 6).

Таблица 6 — Протокол обезвоживания препаратов

№ п/п	Фиксирующий раствор	Температура	Время инкубации
1.	Водопроводная вода	RT	30 минут
2.	Изопропанол 50% I	RT	30 минут
3.	Изопропанол 99,7% II	RT	30 минут
4.	Изопропанол 99,7% III	RT	2 часа
5.	Изопропанол 99,7% IV	RT	2 часа 30 минут
6.	Изопропанол 99,7% V	RT	3 часа
7.	Изопропанол 99,7% VI	RT	3 часа
8.	Парафин I	60°C	2 часа 30 минут
9.	Парафин II	60°C	5 часов

Примечание —\* RT (room temperature) – комнатная температура (20-22°C)

Гистологические срезы толщиной 3-5 мкм готовили на роторном микротоме HM 355 S (Thermo Scientific, Германия), расправляли на предметных стеклах; для иммуногистохимических исследований на положительно заряженных предметных стеклах (Gerhard Menzel GmbH, Германия).

Срезы толщиной 3 мкм окрашивали гематоксилин-эозином в качестве обзорного метода.

Иммуногистохимическое исследование выполнялось на серийных парафиновых срезах отобранных образцов (случайная выборка), не менее чем в 10 случаях из каждой группы.

Панель моноклональных антител включала: Ki67, bcl-2, CK7/19, p53, E-cadherin, N-cadherin, beta-cat, VEGF, MUC1, MUC2, MUC5AC, COX2.

Ki67 – высокоселективный ядерный белок пролиферативной активности, близкий по информативности близок к 3Н-тимидиновой метке. Позволяет выявить пролиферирующие клетки в позднем G1, S, M и G2 периодах, кроме G0 и раннего G1 периодов, поскольку в течение 60–90 минут после митоза разрушается. Антитело для ин витро диагностики клон MIB-1 (ДАКО, Норвегия) в разведении 1:150.

Митохондриальный онкопротеин, ингибитор апоптоза – bcl-2. Член семейства bcl-2 (B-cell lymphoma 2). Антитело для ин витро диагностики bcl-2, клон 124 (Cell Marque, США) в разведении 1:250.

СК7/19 – цитокератины, определяющие цитоскелет эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта. Между экспрессией цитокератинов и прогнозом выявлена прогностически значимая корреляция [29]

p53 – онкопротеин, осуществляющий регуляцию клеточного цикла, апоптоза, репарацию ДНК и подавляющий транскрипцию гена bcl-2. Антитело для ин витро диагностики p53, клон DO7 (Cell Marque, США) в готовом к использованию разведении.

Белки семейства кадгеринов (E-cadgerin, N-cadgerin) – гликопротеины, являющиеся ключевыми участниками в клеточной миграции и адгезии. Повышенная экспрессия этих белков увеличивает инвазивный потенциал опухоли и являются маркерами прогрессии и рецидива после хирургического лечения [271].

Beta-cat – протеин, связанный с кадгеринами, обеспечивает межклеточные соединения, участвует в процессах миграции клеток и ассоциировано с отдаленными исходами заболевания [121].

VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) – белок-стимулятор неоангиогеназа в здоровой и опухолевой тканях. Повышение его активности ассоциировано с прогрессированием и/или рецидивом заболевания, в том числе и после проведенного хирургического лечения [165].

Муцины (MUC1, MUC2, MUC5AC) – представляют собой гликопротеины и являются основным компонентом секрета слизистых оболочек и выполняет защитную функцию. Входит в состав клеточной мембраны и способствует росту и размножению опухолевых клеток [287].

СОХ2 – представляет собой фермент, который экспрессируется, как правило, при воспалении. Экспрессия этого фактора является патологической и индуцируется различными стимулирующими факторами. Принимает участие в процессах трансформации нормальных клеток в опухолевую [276].

Постановку реакций осуществляли согласно протоколам, прилагаемым к используемым моноклональным антителам.

Депарафинизацию препаратов осуществляли ксилолом с последующим проведением через спирты нисходящей крепости до дистиллированной воды (таблица 7).

Таблица 7 — Протокол депарафинизации препаратов

№ п/п	Раствор	Температура	Время
1.	Ксилол I	RT*	10-15 минут
2.	Ксилол II	RT	5-10 минут
3.	Ксилол III	RT	2 минуты
4.	Спирт abs.	RT	2 минуты
5.	Спирт 96% I	RT	2 минуты
6.	Спирт 96% II	RT	2 минуты
7.	Спирт 70%	RT	2 минуты
8.	Спирт 40%	RT	2 минуты
9.	Дистиллированная вода	RT	5 минут

Примечание —\* RT (room temperature) – комнатная температура (20-22°C)

В случае необходимости производили высокотемпературное восстановление антигенных детерминант ткани по методам S-R Shi et al. (1997, 2010, 2011) путем инкубации стекол в буфере (цитратном pH 6,2 или трис-ЭДТА pH 8,0 — по рекомендации производителей первичных антител) в RT-модуле для термической обработки парафиновых срезов (Thermo Scientific, Великобритания) со следующими настройками: температура – 98-99°C, время инкубации – 20±1 минут, предварительный нагрев – 65°C.

Остывшие до 85°C препараты на штативах переносили в аппарат для иммуногистохимического и иммуноцитологического окрашивания Autostainer (Thermo Scientific, Великобритания). Иммуногистохимическое окрашивание выполнялось по протоколам, рекомендованным производителями первичных антител.

Для визуализации реакций применяли готовую тест-систему с универсальными вторичными антителами мечеными хромогеном – Histophine (Nichirei Corp., Япония).

На последнем этапе осуществляли фоновое окрашивание гематоксилином Майера с последующим промыванием в проточной воде. Полученные препараты

обезвоживали в батарее спиртов восходящей концентрации и ксилолов, покрывали полистиролом и заключали под покровное стекло.

Позитивные результаты иммуногистохимической реакции учитывали при наличии двух негативных контролей: на специфичность реакции и отсутствие активной эндогенной пероксидазы и одного внутреннего позитивного на специфичность реакции.

На каждое ИГХ-исследование заполнялся протокол. Каждое проведенное ИГХ-исследование записывалось в валовый журнал.

Гистологические и иммуногистохимические препараты оценивали и фотографировали на микроскопе Axio Imager со штативом A2 (Carl Zeiss Microscopy, Германия), сканировали на сканирующем микроскопе для лабораторных исследований PANNORAMIC Desk (3DHISTECH, Венгрия).

### **2.2.6 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), *PICK3CA* (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).  
Использованные пары комплементарных праймеров представлены в таблице 8.  
Аmplification интересующих фрагментов ДНК выполняли на амплификаторе Терцик (ДНК-Технология, Россия). ПЦР-смесь: 9мкл ddH<sub>2</sub>O, 5 мкл 5x ПЦР буфера, 2,5 мкл 25мМ MgCl<sub>2</sub>, 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.

Таблица 8 — Использованные пары комплементарных праймеров

Ген	Экзон	Последовательность (5`-3`)	
KRAS	3F	TCCAgACTgTgTTTCTCC-C	
	3R	AAAgAAAgCCCTCCCCAgTC	
	4F	TTTTTCTTTCCCAgAgAACAAAT	
	4R	AgCATAATTgAgAgAAAAACTgA	
NRAS	2F	AgAACCAAATggAAggTCACA	
	2R	TgggTAAAgATgATCCgACA	
	3F	CCCCTTACCCTCCACAC	
	3R	AggTTAATATCCgCAAATgAC	
	4F	CCCgTTTTTAgggAgCAgAT	
	4R	CTTgCACAAATgCTgAAAgC	
	BRAF	15F	TCATAATgCTTgCTTgATAggA
		15R	CTT-TCAgTAACTCAgCAgC
PIK3CA	9F	AgCATAATTgAgAgAAAAACT gA	
	9R	CCATTTTAGCACTTACCTGTGAC	
	10F	TGACATTTGAGCAAAGACCTG	
	10R	GGATTGTGCAATTCCTATGC	
	20F	TCTTTTGATGACATTGCATACAT	
	20R	TCCAGAGTGAGCTTTCATTTTC	
	21F	TGCTCCAAACTGACCAAAGCTG	
	21R	TGCATGCTGTTTAATTGTGTGG	
	MET	14F	CGAAGTGTAAGCCCAACTACA
14R		GAATTAGGAAACTGATCTTCTGG	
IDH 1	4F	TGG GTA AAA CCT ATC ATC ATC GAT	
	4R	TGT GTT GAG ATG GAC GCC TA	
IDH 2	4F	TCTGTCCTCACAGAGTTCAAGC	
	4R	CTAGGCGTGGGATGTTTTTG	

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.

### **2.2.7 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). Принцип метода основан на том, что антитела к TGF beta1 человека адсорбированы в лунках микропланшета. При этом TGF beta1, присутствующий в образцах сыворотки крови больного, внесенных в лунки микропланшета связываются с антителами, адсорбированными в лунках. Антитела к TGF beta1, конъюгированные с биотином, связывают молекулы TGF beta1 человека, захваченные первыми антителами. После инкубации и промывки из лунок элиминируются не связавшиеся биотинилированные антитела TGF beta1. В дальнейшем в лунки вносят конъюгат стрептавидина с пероксидазой, который связывает биотин. После инкубации и промывки из лунок удаляется не связавшийся ферментный конъюгат, в последующем в лунки микропланшета

добавляется субстратный раствор, который взаимодействует с ферментным комплексом с образованием окрашенного раствора. Вследствие добавления кислоты реакция останавливается. Интенсивность окрашивания, измеренная на длине волны 450нм, прямо пропорциональна концентрации TGF beta1, присутствующего в образцах сыворотки.

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.

### **2.3 Статистическая обработка полученных данных**

Для статистического анализа используемый материал внесен в базу данных с использованием программного обеспечения «Microsoft EXCEL». Для непосредственных статистических расчетов использовали программное обеспечение «IBM SPSS Statistics версия 26.0».

Оценка соответствия распределения данных нормальному распределению Гаусса проводилась с использованием визуальной оценки графиков рассеяния и критерия Шапиро-Уилка. 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 при несоответствии требованиям параметрических критериев оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Для сравнения качественных параметров применялся точный критерий Фишера или критерий  $\chi^2$  с учетом непараметрических данных и нормального распределения Пуассона.

Функция выживания оценивалась с помощью метода Каплана-Мейера и представляла собой произведение выживаемости в данный момент на выживаемость в следующий момент времени, когда событие произошло. В анализ включены больные, которые не достигли конечного события (остались живы, не

имели рецидива заболевания, вышли из-под наблюдения). Период их наблюдения представляет собой цензурируемую информацию, включается в исследование и учитывается программным обеспечением до конечной точки наблюдения.

Выживаемость пациентов в различных подгруппах сравнивалась с использованием логарифмического рангового критерия (log-rank теста) с построением нескольких кривых выживаемости. Для определения факторов, влияющих на выживаемость пациентов, использовалась однофакторная и многофакторная модели пропорциональных рисков Кокса (методы принудительного включения и прямой пошаговый (отношение правдоподобия). Отношение шансов (ОШ, ExpB) – это оценка отношения интенсивности шанса наступления события в экспериментальной и контрольной (референсной) группах, рассчитанная для любого момента времени наблюдения. Прогностическими характеристиками могут являться как непрерывные, так и категориальные данные. В отличие от одномерной, многомерная модель позволяет провести оценку одновременного влияния более чем одного фактора на результат и дает информацию о степени влияния на исход каждой из переменных, а также об эффекте взаимодействия этих переменных между собой.

Критическое значение уровня статистической достоверности нулевой гипотезы принимали равным 0,05. Различия признавали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ ОПУХОЛИ

#### 3.1 Клинико-морфологические показатели опухоли

В 54 (80,6%) случаях опухоль была локализована в одной доле, тогда как у 13 пациентов (19,4%) в опухолевый процесс были вовлечены обе доли. Средний размер опухоли составлял 8,8 см (2,5–14,0 см), в большинстве случаев встречались солидные опухоли ( $n = 57$ , 85%). Очаги отсева были выявлены в 10 случаях (15%). В подавляющем большинстве случаев был выявлен масс-формирующий тип роста опухоли ( $n = 73$ ; 92%), в то время как перидуктальная инфильтрация имела место в 4 случаях (6%). Метастазы в лимфатические узлы отмечены у 21 пациента (31,3%). В подавляющем большинстве случаев морфологически опухоль была представлена умеренно (G2)- и низкодифференцированной (G3) аденокарциномой ( $n = 38$ ; 56,7% и  $n = 20$ ; 29,8% соответственно). Необходимо отметить, что в нашем исследовании высокодифференцированная аденокарцинома встречалась крайне редко ( $n = 3$ ; 4,5%). Инвазия капсулы печени была определена у 43,3% (29 пациентов). Микрососудистая инвазия была выявлена также в 37 случаях (55,2%), периневральная инвазия имела место в 26 наблюдениях (38,8%). 9 (13,4%) пациентам потребовалась билиарная декомпрессия в предоперационном периоде. Характеристики опухолей, а также типы выполненных операций представлены в таблице 9.

Таблица 9 — Клинико-морфологическая характеристика опухолей

Характеристики опухоли	n = 67
Размер опухоли	
Опухоль менее 5 см	14 (21%)
Опухоль более 5 см	53 (79%)
Инвазия капсулы	
Инвазия в капсулу печени	29 (43,3%)
Нет инвазии в капсулу печени	32 (47,8%)
Нет данных	6 (9%)
Микрососудистая инвазия	
Наличие микрососудистой инвазии	37 (55,2%)
Микрососудистая инвазия не определяется	24 (35,8%)
Нет данных	6 (9%)
Периневральная инвазия	
Наличие периневральной инвазии	26 (38,8%)
Периневральная инвазия не определяется	35 (52,2%)
Нет данных	6 (9%)
Локализация опухоли	
Правая доля	29 (43,3%)
Левая доля	25 (37,3%)
Билобарное поражение	13 (19,4%)
Степень дифференцировки опухоли	
G1 (высокодифференцированная аденокарцинома)	3 (4,5%)
G2 (умеренно-дифференцированная аденокарцинома)	38 (56,7%)
G3 (низкодифференцированная аденокарцинома)	20 (29,8%)
Нет данных о дифференцировке	6 (9%)

### 3.2 Результаты гистологического и иммуногистохимического исследования

В настоящее время принято выделять три макроскопические формы ВПХЦР в зависимости от типа роста опухоли: масс-образующий, перидуктально-инфильтративный, внутрипротоковый. У подавляющего большинства наших пациентов наблюдался масс-образующий тип ВПХЦР (n=73; 92%). Макроскопически он определялся как серовато-белесоватое узловое образование,

плотной консистенции, как правило, солидное, иногда с наличием отсевов по периферии опухоли (рисунок 11).



Рисунок 11 — Макроскопическая картина ВПХЦР с масс-образующим типом роста

Опухоли с другими типами роста встречались гораздо реже: перидуктально-инфильтративный в 4 (6%) случаях, внутривнутрипротоковый в 2(3%) случаях.

При перидуктально-инфильтративном типе роста, вследствие «стелящегося» распространения опухоли по соединительной ткани вокруг протока, редко удается определить макроскопическую характеристику опухоли. У всех четырех пациентов она вызывала обструкцию протока и распространялась в окружающий проток, паренхиму печени и приобретала более характерную для масс-образующего типа роста признаки (рисунок 12).



Рисунок 12 — Макроскопическая картина ВПХЦР с перидуктально-инфильтративным типом роста. Зонд введен в просвет протока, вокруг которого определяется разрастание опухоли (показано стрелкой)

Внутрипротоковый тип роста имел место у двух пациентов, макроскопически эти случаи определялись как разрастания внутри расширенных желчных протоков с инвазией в окружающую паренхиму (рисунок 13).



Рисунок 13 — Макроскопическая картина ВПХЦР с внутрипротоковым типом роста. Внутри протока определяется опухолевая масса

Гистологически ВПХЦР представлен аденокарциномой различной степени дифференцировки. Из 67 оперированных пациентов высокодифференцированная

аденокарцинома встречалась только в 3(4,5%) случаях у больных свнутрипротоковым типом роста опухоли. В подавляющем большинстве случаев опухоль была представлена умеренно (G2)- и низкодифференцированной (G3) аденокарциномой (n= 38; 56,7% и n=20; 29,8% соответственно). У остальных 6 пациентов степень дифференцировки опухоли не была оценена (пациенты более ранних лет). На рисунке 14 представлена гистологическая картина умеренно-дифференцированного внутриспеченочного холангиоцеллюлярного рака печени.

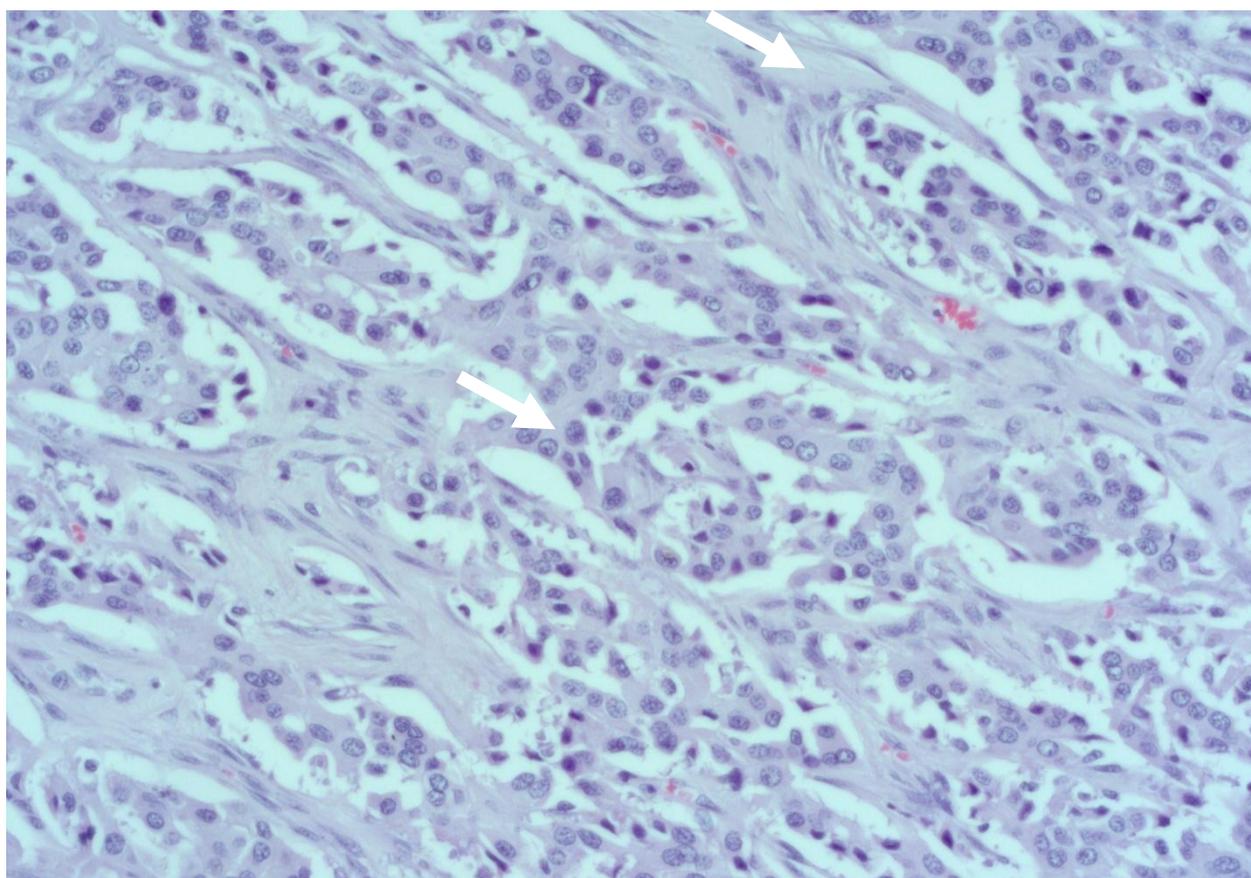


Рисунок 14 — Гистологическая картина (микроскопическое фото) умеренно дифференцированного внутриспеченочного холангиоцеллюлярного рака тубулярно-солидного строения больной с масс-образующими типом роста (окраска гематоксилин-эозином) (указаны стрелкам). Увеличение x200

При иммуногистохимическом исследовании основным иммунофенотипическим признаком ВПХЦР, характерным для всех типов роста, является мембранно-цитоплазматическая экспрессия цитокератинов 7 и 19, который наблюдался у 100% исследованных пациентов (рисунок 15).

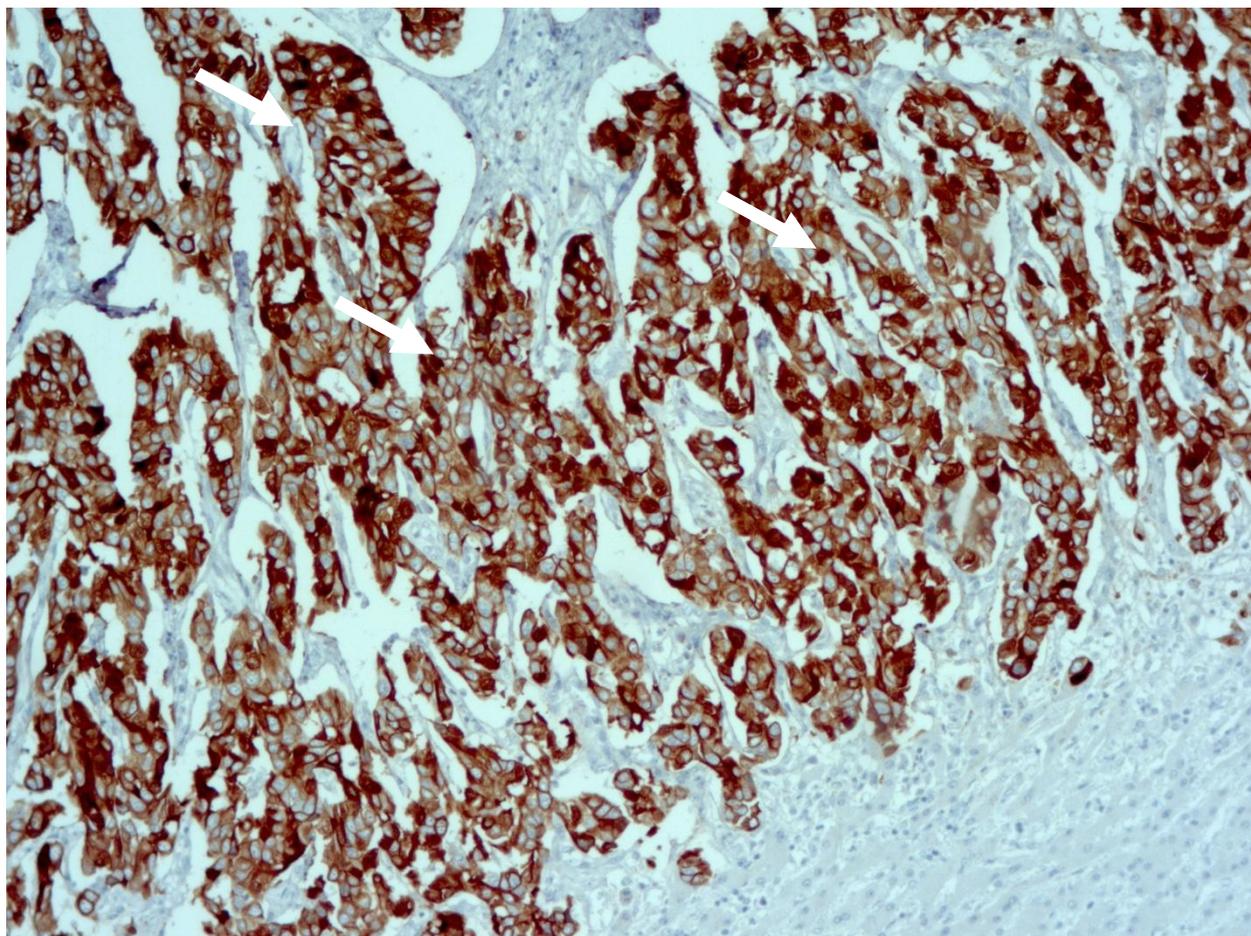


Рисунок 15 — Иммуногистохимическое исследование. Выраженная цитоплазматическая экспрессия Cytokeratin 7 в клетках внутривенной холангиокарциномы (указана стрелками)

### **3.3 Результаты инструментальных методов исследования (УЗИ, КТ, МРТ-семиотика больных с ВПХЦР)**

Инструментальной диагностике придавалось решающее значение при выборе объема операции и тактики лечения в целом. Она позволяла оценить не только характер, локализацию опухолевого процесса и отношения к магистральным сосудам, но и оценить функциональное состояние и объем остающейся паренхимы печени после резекции. Предоперационная оценка состояния больного позволяла планировать объем оперативного вмешательства.

Основными инструментальными методами диагностики являлись УЗИ органов брюшной полости, МСКТ грудной клетки без контрастирования (для исключения отдаленных метастазов), МСКТ органов брюшной полости с

внутривены контрастированием (артериальная, венозная и отсроченная), а также МРТ органов брюшной полости с внутривены контрастированием, при необходимости с гепатоспецифическим контрастом.

УЗИ по специфичности и чувствительности уступает МСКТ и МРТ и в настоящее время применяется как скрининговый метод для исключения очаговых образований печени. УЗИ органов брюшной полости выполнено у всех пациентов. При этом ВПХЦР определялся как изо- или гипоехогенное образование неоднородной структуры и визуализировался, как правило, при размерах 2 см и более. На рисунках 16 и 17 представлены сонограммы больного с ВПХЦР.



Рисунок 16— Сонограмма больного с ВПХЦР (опухоль показана стрелкой; определяется как изоэхогенное образование и вызывает блок желчных протоков)



Рисунок 17 — Сонограмма больного с ВПХЦР (опухоль показана стрелкой; определяется как изоэхогенное образование с инвазией в правую ветвь воротной вены и регионарной лимфаденопатией)

В режиме ЦДК ВПХЦР представлен умеренно или гиповаскулярным образованием с интранодулярными артериальными сосудами (рисунок 18).

В настоящее время МСКТ и МРТ с внутривенным контрастным усилением, а также МРХПГ являются основными методами исследования, позволяющими с высокой диагностической точностью установить диагноз ВПХЦР и определить объем предстоящего хирургического лечения. Оба метода (МСКТ и МРТ) при диагностике ВПХЦР не уступают друг другу, однако при визуализации мелких очагов (менее 6 см), а также перидуктальном и внутрипротоковом типах роста опухоли МРТ обладает более высокой специфичностью и чувствительностью. Кроме того, выполнение МРТ в сочетании с МРХПГ позволяет оценить уровень блока желчных протоков. С другой стороны МСКТ с внутривенным контрастным усилением позволяет более точно оценить степень вовлеченности магистральных сосудов и спланировать объем оперативного лечения.

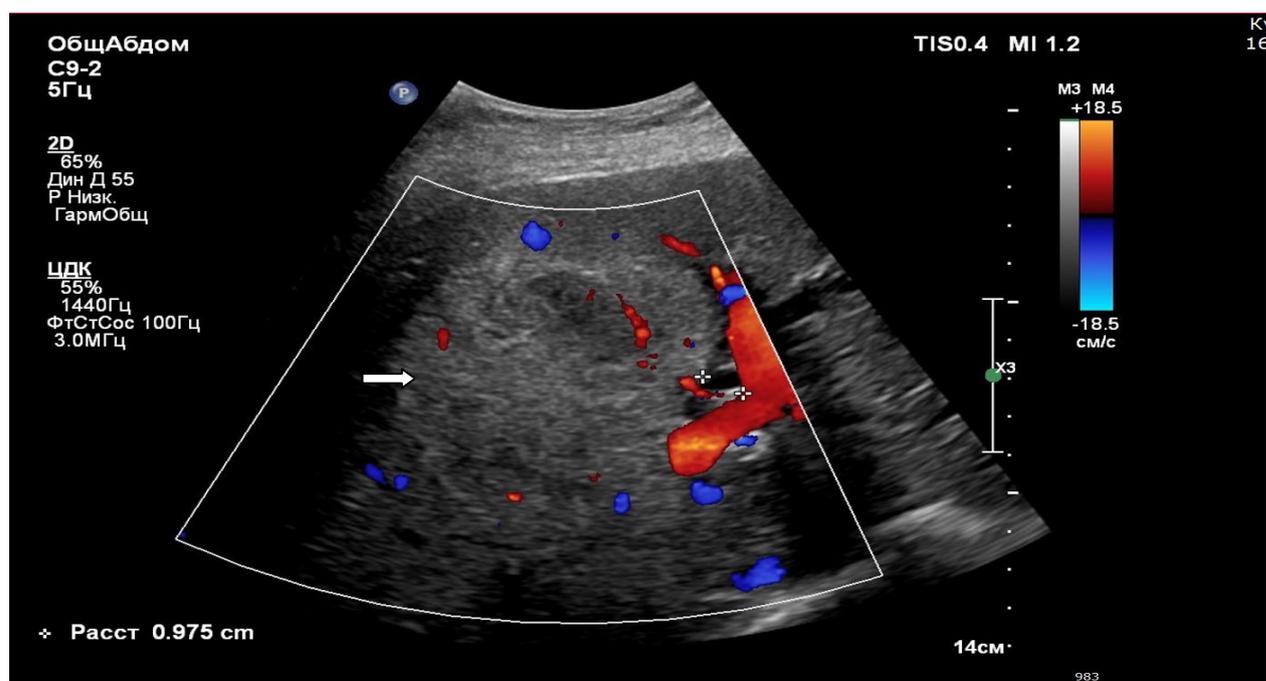


Рисунок 18 — Сонограмма больного в режиме ЦДК (определяется изоэхогенное гиповаскулярное образование с преимущественным интранодулярным расположением артериальных сосудов)

На рисунках 19-20 показаны компьютерная и магнитно-резонансная томограммы больной ВПХЦР.

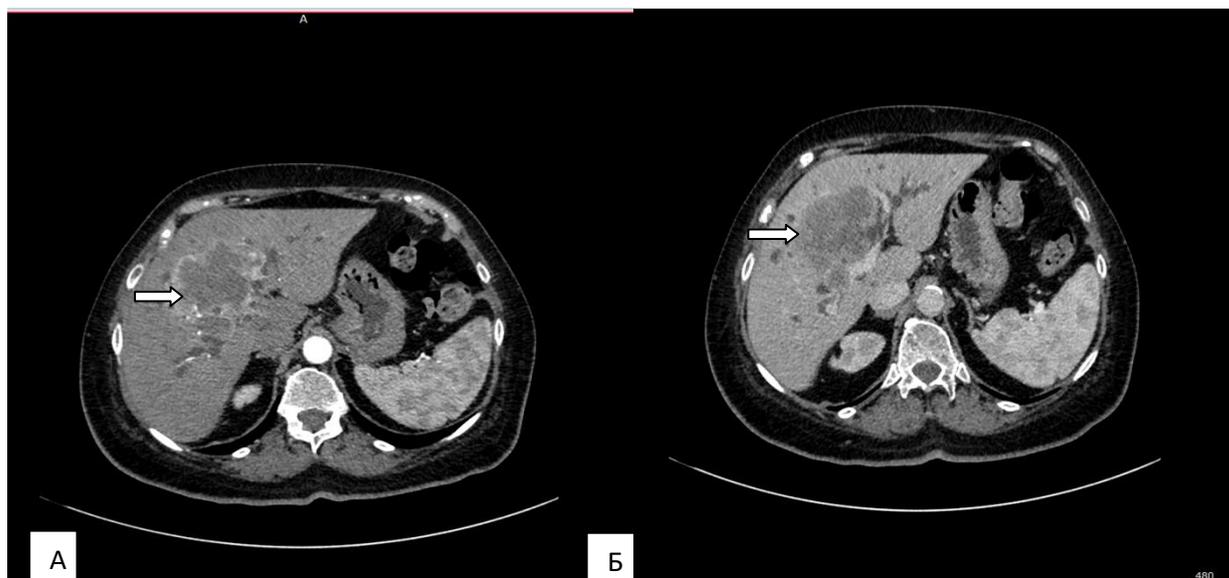


Рисунок 19 — МСКТ больной внутриспеченочным холангиоцеллюлярным раком (опухоль показана стрелкой) 4,5,8 сегментов печени с масс-образующими типом роста опухоли. А- артериальная фаза, Б – венозная фаза. Обращает на себя внимание более усиленное накопление контраста в артериальной фазе, а также расширение внутриспеченочных желчных протоков проксимальнее опухоли

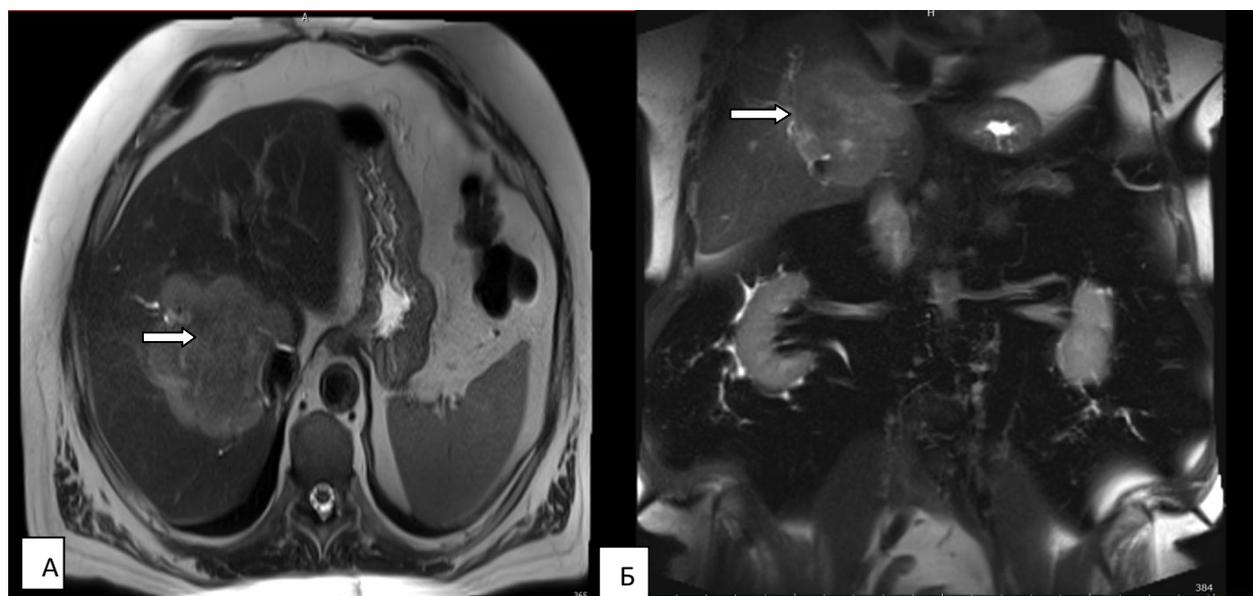


Рисунок 20 — МРТ больного внутриспеченочным холангиоцеллюлярным раком (опухоль показана стрелкой) в 1,5,6,7,8 сегментах печени с масс-образующим типом роста опухоли. А – аксиальная проекция, Б – коронарная проекция

ПЭТ/КТ с [18F]-FDG не имеет преимуществ перед стандартным МСКТ с внутривенным контрастированием и, как правило, для предоперационной

диагностики не применяется. Однако при выявлении отдаленных метастазов в других органах и системах в послеоперационном периоде на фоне адьювантной ПХТ данный метод, наряду с МСКТ и МРТ, приобретает решающее значение. МСКТ органов брюшной полости с внутривенным контрастированием выполнено у наших больных в 100% случаев, МРТ - в 85% (как правило, в сочетании с МРХПГ). При этом оценивали нативную, артериальную, венозную и отсроченные фазы. В 87% случаев опухоль была гиподенсной, накапливала контраст в артериальной, венозной и отсроченной фазах. В подавляющем большинстве случаев (68 %) наблюдалось усиленное накопление контрастного препарата по периферии в артериальной фазе.

КТ/МРТ семиотика опухолей наших пациентов несколько различалась в зависимости от размера опухоли. В таблице 10 представлены основные КТ/МРТ признаки ВПХЦР и частота их встречаемости у пациентов.

Таблица 10 — КТ/МРТ семиотика ВПХЦР в зависимости от размера опухоли и частота встречаемости

МСКТ/МРТ-характеристики опухоли	Крупные опухоли (>5см) N =53(69%)	Небольшие опухоли (<5см) N =25 (21%)	Всего, N=79(100%)	P
Гиподенсная опухоль неправильной округлой формы	44(83 %)	18(72%)	62(78%)	0,622
Наличие гиперэхогенного ободка в артериальной и/или венозной фазе	51(96%)	11(38%)	62(78%)	<b>0,043</b>
Опухоль имеет гомогенную структуру (отсутствие гиперэхогенного ободка)	3(6%)	7(24%)	10(13%)	0,023
Опухоль солитарная	50(94%)	11(38%)	61(77%)	<b>0,048</b>
Мультифокальное	7(13%)	4(14%)	11(14%)	0,820

поражение				
Ретракция капсулы	29(55%)	-	29(37%)	-
Блок проксимальных желчных протоков	38(72%)	6(21%)	44(56%)	<b>0,020</b>
Воротная лимфаденопатия	24(45%)	5(17%)	29(37%)	0,111
Макрососудистая инвазия (воротная, печеночная вена)	21(40%)	6(21%)	27(34%)	0,297

### 3.4 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 21).

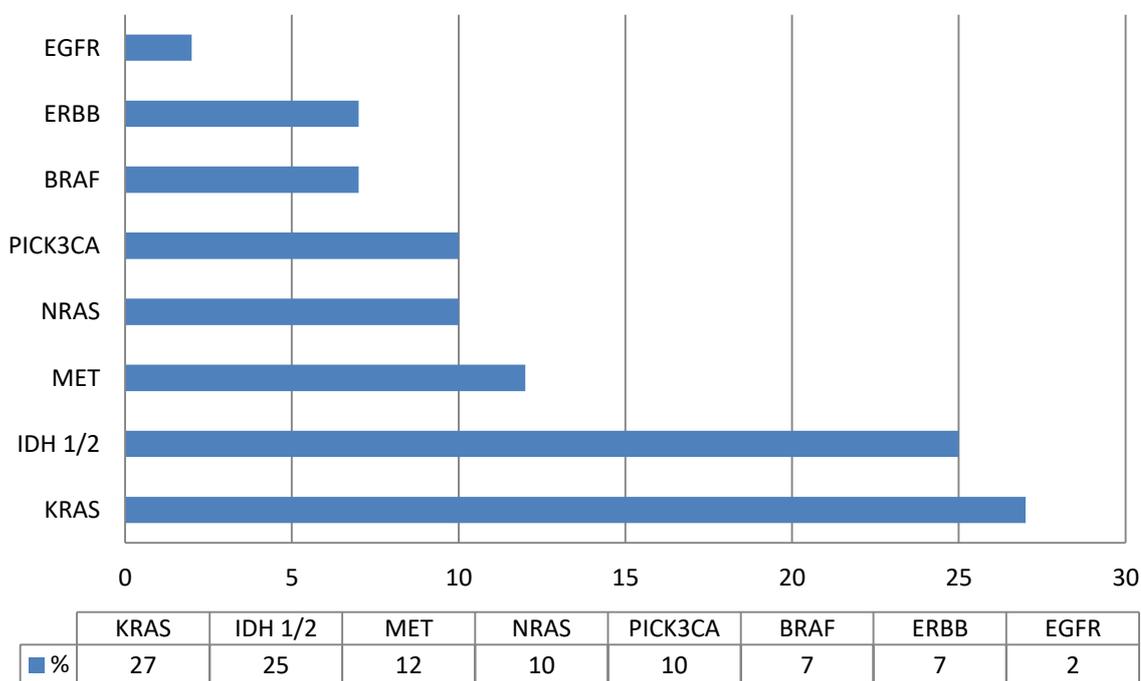


Рисунок 21 — Распространенность мутаций генов при внутрипеченочной холангиокарциноме

При проведении сравнительной характеристики пациентов по клинико-морфологическим показателям нами были отмечены тенденции, характерные для наличия тех или иных мутаций. Однако, отсутствие достоверно значимых различий, возможно, связано с небольшими выборками в группах сравнения. Однако, учитывая роль мутаций в ключевых процессах патогенеза опухоли, полученные данные представляют интерес (таблица 11).

Таблица 11 — Клиническая характеристика пациентов с учетом различных мутаций генов

	<i>KRAS</i>	<i>IDH1/2</i>	<i>NRAS</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>MET</i>	<i>BRAF600</i>	<i>EGRF</i>	<i>ERBB2</i>
Средний возраст, лет	57,7	60,4	57,5	62,7	57	58	74	57
Мужской пол, %	0	50	75	0	80	0	0	0
Размер опухоли, см	8,9	8,5	8,3	10,3	8,3	10,7	6,8	11
Отдаленные метастазы, %	11	12,5	0	20	33	33	50	0
Сосудистая инвазия есть, %	44	60	50	25	66	100	50	100
Низкодифференцированные опухоли, %	66	33	0	33	33	66	50	100

Как видно в таблице 11 наиболее частыми мутациями при ВПХЦР были мутации генов *IDH1/2*, *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*.

Влияние мутации генов *IDH1/2* на клинико-демографические показатели представлено в таблице 12.

Таблица 12 — Взаимосвязь между мутацией генов IDH1/2 и клинико-демографическими показателями

Клинико-демографические показатели и характеристики опухоли		<i>IDH1/2- дикий тип</i> (n = 31)	<i>IDH1/2 + мутированный тип</i> (n = 10)	Достоверность, <i>p</i> <0,05
Возраст, медиана (диапазон)	≥60 лет	20	5	0,414
	<60 лет	11	5	
Пол	Мужской пол	12	2	0,278
	Женский пол	19	8	
Сосудистая инвазия	Есть	20	5	0,414
	Нет	11	5	
Размер опухоли	≥5см	26	8	0,778
	<5см	5	2	
Степень дифференцировки	Умеренно-дифференцированная	15	2	0,052
	Низкодифференцированная	10	7	
	Нет данных	6	1	
R	R0	6	4	0,253
	R1-2	22	6	
	Нет данных	3	-	
Стадия	1-2	15	3	0,309
	3-4	16	7	
Метастазы в л/у	Есть	19	3	0,812
	Нет	10	2	
	Нет данных	2	5	
Инвазия в капсулу	Есть	14	8	0,039
	Нет	14	1	
	Нет данных	3	1	

Обращает на себя внимание, что мутация гена *KRAS* была выявлена только у лиц женского пола. Только в 2 случаях удалось выполнить резекцию R0 (28%), в остальных 7 случаях выполнена резекция R1-R2 (72%). Гистологически опухоль была представлена умеренно-дифференцированной (7; 63%) и низкодифференцированной (3; 27%) аденокарциномой.

Высокодифференцированная аденокарцинома не встречалась ни в одном случае. В 5 случаях опухоль была 3А стадии, в 2 случаях - 1Б стадия и в 2 случаях – 2 стадия.

Клинико-демографические показатели пациентов и характеристики опухоли (пол, возраст, размер опухоли, степень дифференцировки, стадия, радикальность операции), а также влияние мутации гена *KRAS* на эти показатели показаны в таблице 13.

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).

Таблица 13 — Связь мутации гена *KRAS* с клинико-демографическими показателями пациентов и характеристики опухоли

Клинико-демографические показатели и характеристики опухоли		<i>KRAS</i> - дикий тип (n = 30)	<i>KRAS</i> - мутированный тип (n = 11)	Достоверность, $p < 0,05$
Возраст, медиана (диапазон)	≥60 лет	20	1	0,002
	<60 лет	10	10	
Пол	Мужской пол	14	0	0,027
	Женский пол	16	11	

Сосудистая инвазия	Есть	19	5	0,315
	Нет	9	5	
	Нет данных	3	1	
Размер опухоли	≥5см	18	1	0,003
	<5см	11	10	
	Нет данных	1	-	
Степень дифференцировки	Умеренно-дифференцированная	19	7	0,796
	Низко-дифференцированная	10	3	
	Нет данных	1	1	
R	R0	11	4	0,866
	R1-2	17	7	
	Нет данных	2	-	
Стадия	1-2	13	4	0,791
	3-4	16	6	
	Нет данных	1	1	
Метастазы в л/у	Есть	10	4	0,912
	Нет	19	7	
	Нет данных	1	-	
Инвазия в капсулу	Есть	22	7	0,906
	Нет	7	2	
	Нет данных	1	2	

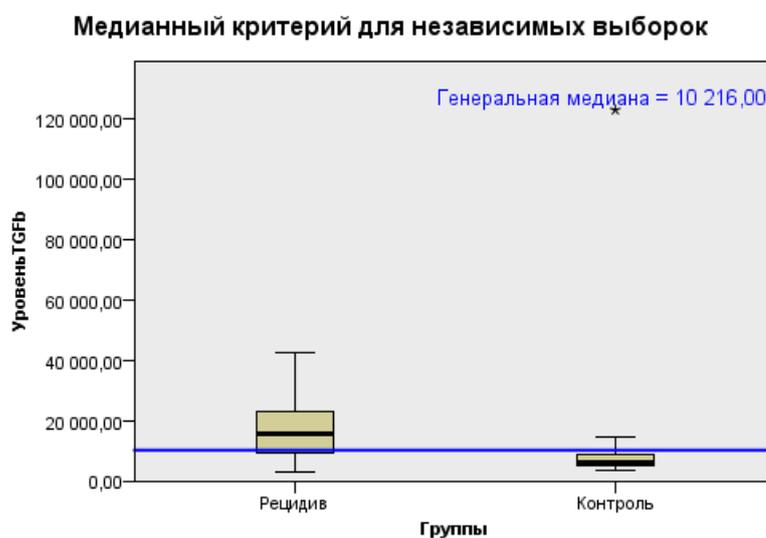
### 3.5 Результат исследования содержания TGF beta1 в сыворотке крови больных с рецидивом ВПХЦР

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). 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 22).



Всего N	46	
Медиана	10 216,000	
Статистика критерия	8,013	
Степени свободы	1	
Асимптотическая знч. (2-сторонний критерий)	,005	
Поправка на непрерывность Йетса	Хи-квадрат	6,331
	Степени свободы	1
	Асимптотическая знч. (2-сторонний критерий)	,012

1. Множественные сравнения не выполняются, поскольку количество проверяемых полей меньше трех.

Рисунок 22 — TGFbeta-1 в группе рецидива ВПХЦР и группе контроля

Повышение уровня TGF beta-1 отмечалось у 63% пациентов с рецидивом ВПХЦР после хирургического лечения, что свидетельствует о повышенной экспрессии данного белка опухолевыми клетками при рецидиве и прогрессировании. Этот аспект требует дальнейшего изучения на большей выборке включая пациентов без рецидива заболевания и является перспективным направлением.

## ГЛАВА 4. ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВПХЦР. НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ И ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

### 4.1 Предоперационная декомпрессия (антеградная, ретроградная)

Билиарная гипертензия при ВПХЦР в отличие от воротной холангиокарциномы (опухоль Клацкина), встречается значительно реже, и ее возникновение прямо или косвенно указывает о длительном существовании процесса (большие размеры опухоли) или локализации опухолевого процесса в центральной части печени. Дренирование желчных протоков показано при уровне общего билирубина свыше 150 ммоль/л. У наших пациентов предоперационная билиарная декомпрессия желчных протоков потребовалось 10 пациентам (13,4%). При этом в 6 случаях опухоль имела большие размеры (размер опухоли варьировал от 7 см до 14 см), в остальных 4 случаях опухоль имела размеры до 5 см, однако была локализована в центральной части печени с вовлечением в опухолевый процесс долевых и/или секторальных протоков. Всем данным пациентам была выполнена резекция печени в сочетании с резекцией внепеченочных желчных протоков.

Антеградное дренирование (чрескожное чреспеченочное дренирование желчных протоков (ЧЧХС)) было выполнено 7 (70%) пациентам, ретроградное дренирование (эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография (ЭРХПГ), стентирование желчных протоков) – 3 (30%) больным. Следует сказать, что оба метода (антеградный и ретроградный) позволили достаточно эффективно купировать желтуху, однако, при ВПХЦР мы отдаем предпочтение антеградному методу. При супрапапиллярном расположении дренажа метод достаточно безопасен, кроме того, после резекции гепатикохоледоха ранее установленный дренаж выполняет функцию каркаса, что является профилактикой несостоятельности гепатикоюноанастомоза и ранней рубцовой стриктуры анастомоза. Более того, в случае рецидива опухоли в зоне гепатикоюноанастомоза, через наружно-внутренний холангиостомический дренаж, возможно выполнение фотодинамической терапии. Ретроградный

метод дренирования желчных протоков сопряжен с риском возникновения послеоперационного панкреатита. С другой стороны, в отношении качества жизни больного, данный метод является наиболее оптимальным.

#### **4.2 Выбор объема и варианта резекции печени**

С учетом вышеперечисленных факторов с целью оценки влияния объема резекции печени на непосредственные и отдаленные результаты, больные были разделены на 2 группы. Первую группу составили 47 больных (70,1%), которым выполнены «истинно» анатомические резекции печени, т.е. гемигепатэктомии и расширенные гемигепатэктомии. При этом выполнялась резекция печени с предварительной перевязкой сосудисто-секреторной ножки по линии демаркации. Остальным 20 больным (2 группа) (29,9%) выполнены так называемые анатомические сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук-направленного хирургического подхода. Эти пациентам выполнены резекции двух и трех сегментов печени. Определяющими факторами в выборе объема резекции печени были локализации 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. Технические аспекты выполненных оперативных вмешательств описаны во второй главе.

### **4.3 Возможности двухэтапной резекции печени при ВПХЦР (ALPPS).**

#### **Портоэмболизация. Лигирование правой ветви воротной вены**

У двух пациентов в связи с малым объемом ремнанта выполнена двухэтапная резекция печени с применением метода ALLPS. В первом случае на первом этапе выполнена эмболизация правой ветви воротной вены без разделения паренхимы, на втором этапе — радикальное удаление опухоли в объеме правосторонней гемигепатэктомии. Во втором случае выполнено лигирование правой ветви воротной вены с РЧА паренхимы печени без разделения на первом этапе, на втором этапе выполнена правосторонняя гемигепатэктомия.

Ниже приводим клинические наблюдения.

**Больная М.**, 64 года, обратилась в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского с жалобами на снижение веса, распирающие боли в правом подреберье.

Из анамнеза известно, что в октябре 2018 года при обследовании на УЗИ ОБП выявлены очаговые образования в печени. На МСКТ (рисунок 23, 24) органов брюшной полости с внутривенным контрастированием от 29.11.21 в проекции в 4а-8 сегментов печени с распространением на 1 сегмент определяется округлой формы гиповаскулярное образование, размером 41x35 мм, накапливающее контрастный препарат в виде ободка по периферии; образование тесно прилежат к области ворот печени с распространением на правую ветвь воротной вены. В 7 сегменте определяется аналогичное образование, размером 19x15 мм, прилежит к нижней полой вене.

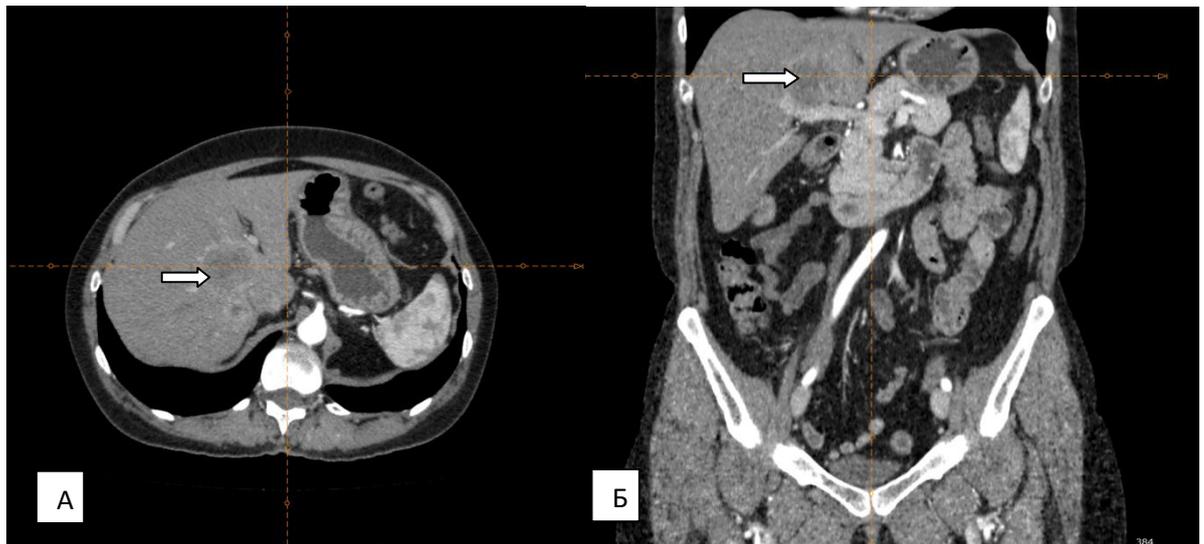


Рисунок 23 — МСКТ в артериальной фазе. А (аксиальная проекция): внутривенный холангиоцеллюлярный рак 1,4а,8 сегментов печени (опухоль показана стрелкой); в 7 сегменте определяется отсев (показа синей стрелкой); Б (коронарная проекция): опухоль распространяется на правую ветвь воротной вены

МРТ органов брюшной полости пациентки на рисунке 22.

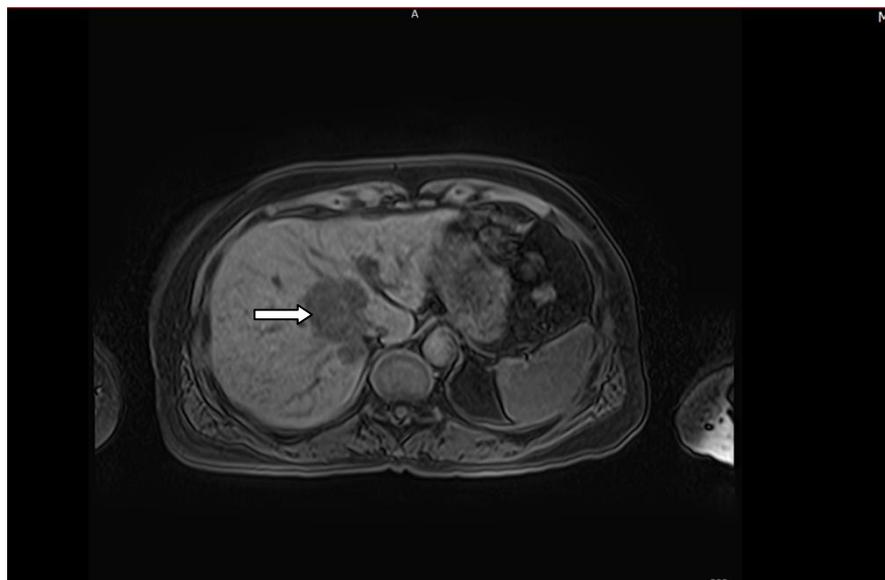


Рисунок 24 — МРТ-картина опухоли в 1,4а,8 сегментах печени с отсевами в 7 сегменте

С учетом распространения опухолевого процесса больной было показано вмешательство в объеме расширенной правосторонней гемигепатэктомии, однако, учитывая малый объем

остающейся левой доли печени на первом этапе (08.07.2019) выполнена чрескожная чреспеченочная портография и эмболизация правой ветви воротной вены (рисунок 25).

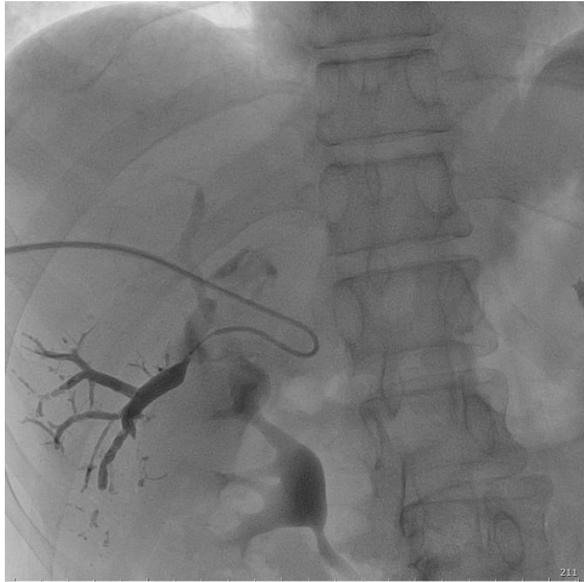


Рисунок 25 — Портография. Состояние после эмболизации правой ветви воротной вены (в просвете вены определяется катетер и эмболизат)

МСКТ органов брюшной полости от 29.07.2019 (рисунок 26 а,б) - состояние после чрескожной чреспеченочной портографии, эмболизации правой ветви воротной вены от 08.07.2019 года. Увеличение объема левой доли печени (сохранный объем левой доли:  $S2+S3+S4b$   $420 \text{ см}^3$  (при сравнении с данными исследования 05.07.2019  $+195 \text{ см}^3$ ). При оценке образований печени в сравнении с данными исследования от 05.07.2019, отмечается отрицательная рентгенологическая динамика в виде увеличения размеров с инвазией ветвей воротной вены, средней, правой печеночных вен. Не исключается краевая инвазия в нижнюю полую вену.



Рисунок 26 а,б — МСКТ больной через 21 день после портоэмболизации (венозная фаза). А. ПВВВ не контрастируется (стрелкой показаны эмболизаты); отмечается увеличение размеров опухоли: Б. Отмечается увеличение объема левой доли печени за счет 2 и 3 сегментов

13.08.2019 вторым этапом выполнена лапаротомия, расширенная правосторонняя гемигепатэктомия с резекцией 1 сегмента и краевой резекцией нижней полой вены, холецистэктомия. На рисунке 27 представлен макропрепарат.



Рисунок 27 — Макропрепарат (удаленная правая доля печени с 1 сегментом). Опухоль показана стрелкой

Гистологическая картина соответствует умеренно дифференцированному внутривенному холангиоцеллюлярному раку левой доли печени, размером 6,5х6х6 см. pT2 cNX cM0; M8160/3, G2; Pn1, L0; V1, R1. Опухоль распространяется на 1 сегмент печени с очагами инвазии сосудистых щелей, подрастает под собственную капсулу печени без ее инвазии.

Послеоперационный период протекал без осложнений. В последующем больная получала 6 курсов адъювантной системной химиотерапии по схеме GEMCIS. На контрольной МРТ органов брюшной полости, выполненной через 25 месяцев, признаков рецидива опухоли не выявлено (рисунок 28). Онкомаркер СА 19-9 в пределах референсных значений.

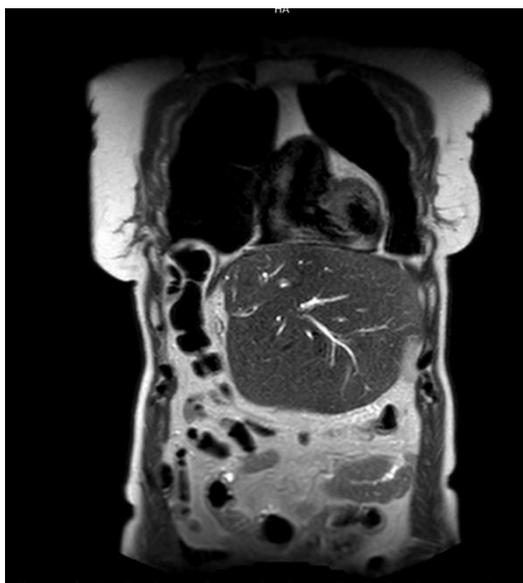


Рисунок 28 — МР-томограмма больной через 25 месяцев после операции: печень представлена гипертрофированными 2 и 3 сегментами печени; отмечается умеренная билиарная гипертензия, признаков рецидива опухоли не получено

Согласно другому нашему клиническому наблюдению, применение РЧА на первом этапе операции позволило уменьшить повреждение паренхимы печени, снизить частоту осложнений, связанных с ее разделением, в то же время, лигирование ПВВВ позволило добиться гипертрофии планируемого остатка печени в большем объеме и в более быстрые сроки.

Приводим данное клиническое наблюдение.

**Больной Х.**, 69 лет, обратился в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского, с жалобами на выраженную слабость, тяжесть в правом подреберье.

На МСКТ органов брюшной полости с внутривенным контрастированием выявлено образование 8 сегмента печени с распространением на 1,5,6,7 сегменты, размерами 9,5 x 9 см с

развитием умеренной билиарной гипертензии в 8 сегменте, вовлечением правой печеночной вены. Не исключается инвазия в нижнюю полую вену (НПВ). Аналогичное образование выявлено и на МРТ. Онкомаркеры: АФП - 2,39 (норма до 7,329), РЭА - 1,7 (норма до 5,0), СА 19-9 - 257 (норма до 37). КТ и МРТ томограммы представлены на рисунке 29 а,б.

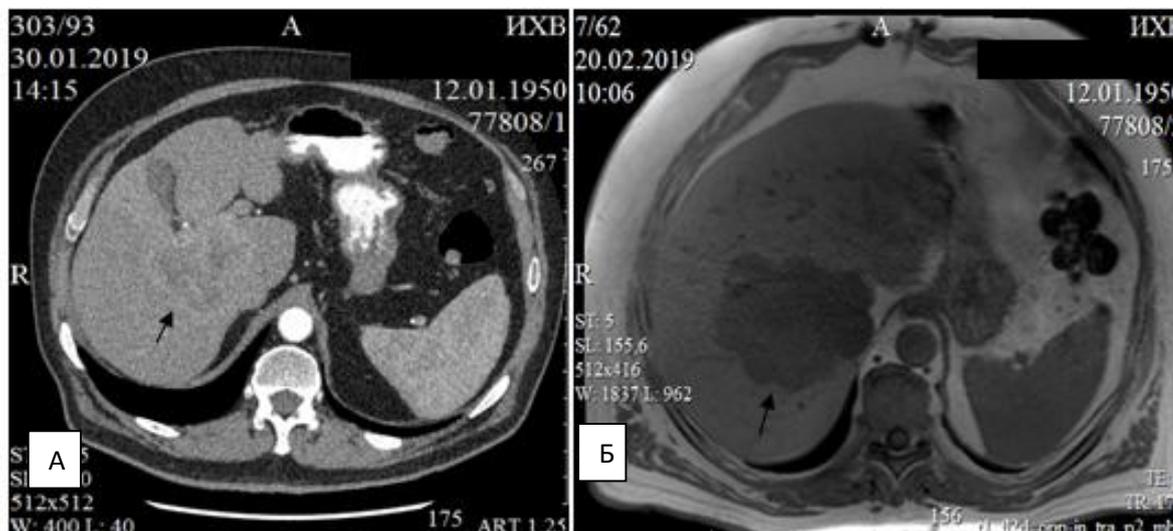


Рисунок 29 — МСКТ (А) и МРТ (Б) больного. Стрелками показана опухоль, исходящая из 8 сегмента

Больному установлен диагноз:

Основной — внутripеченочный холангиоцеллюлярный рак 1,5,6,7,8 сегментов печени cT3N1M0

Сопутствующий - трепетание предсердий с 2003 года. Фибрилляция предсердий, пароксизмальная форма. РЧА аритмогенных зон (2007 г., 2008 г.), РЧА модификация операции «Лабиринт», перевязка ушка левого предсердия в условиях искусственного кровообращения (2012г.), наружная кардиоверсия по поводу срыва ритма (2014г.), РЧА аритмогенных очагов (2015г, 2018г.)

18.03.2019 произведена лапаротомия J-образным разрезом. Выявлена опухоль, исходящая из 8 сегмента печени с распространением на 1,5,6,7 сегменты. Выполнено интраоперационное УЗИ: визуализируется гипоехогенное образование 8 сегмента печени с переходом на 1,5,6,7 сегменты, диаметром до 9 см. Пациенту была показана правосторонняя гемигепатэктомия с резекцией 1 сегмента, однако, учитывая малый объем остающейся левой доли печени, решено воздержаться от одномоментной резекции.

Первым этапом было решено ограничиться лигированием правой ветви воротной вены (ПВВВ) и РЧА паренхимы печени в плоскости предполагаемой резекции, холецистэктомией. Произведена мобилизация правой доли печени. Выполнена холецистэктомия от «шейки» с

раздельной перевязкой пузырной артерии и пузырного протока. Выделена и перевязана ПБВВ, отмечена отчетливая демаркация правой доли печени. После чего, выполнена РЧА паренхимы печени в плоскости предполагаемой резекции (слева от средней печеночной вены на 1 см) под контролем УЗИ.

Послеоперационный период протекал гладко. В дальнейшем проводилась динамическая оценка объема паренхимы печени.

На контрольной промежуточной МСКТ ОБП от 25.03.2019 (7-е сутки после RALPPS) сохраняется описанное раннее образование в правой доле печени с развитием умеренной билиарной гипертензии в 8 сегменте, отмечается вовлечение в опухоль правой печеночной вены, вероятно, инвазия в стенку НПВ. ПБВВ лигирована от устья. Количественные показатели объемов печени следующие: общий объем печени – 1845 см<sup>3</sup>, объем правой доли – 1007 см<sup>3</sup> (54,6%) (без образования), объем левой доли – 655 см<sup>3</sup> (35,5%), объем образования – 183 см<sup>3</sup> (9,9%) (рисунок 30 а,б).

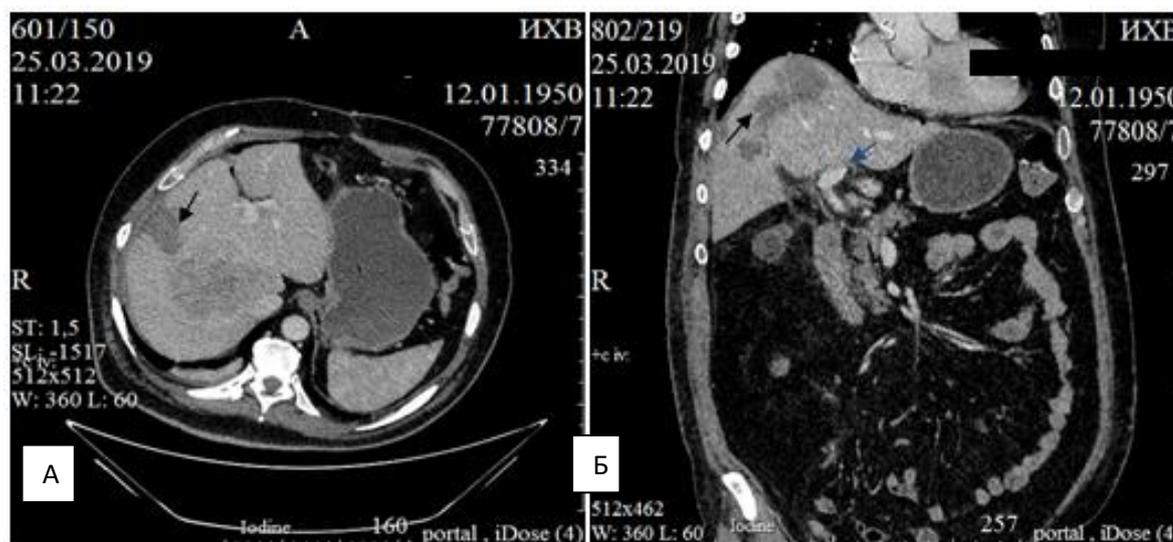


Рисунок 30 — МСКТ больного в аксиальной (А) и коронарной (Б) проекциях после РЧА в плоскости резекции печени. Черной стрелкой показана зона некроза, белой стрелкой - левая ветвь воротной вены (правая ветвь не контрастируется – лигирована)

Контрольное МСКТ ОБП от 12.04.2019 (24 сутки после RALPPS) выявило следующие показатели объема печени: общий объем печени - 2200 см<sup>3</sup>, объем правой доли - 1200 см<sup>3</sup> (54,5%), левой доли печени - 1000 см<sup>3</sup> (45,5%). Остальные показатели без динамики по сравнению с предыдущими исследованиями. На рисунке 31 представлена компьютерная томограмма больного после первого этапа операции на 28 сутки.

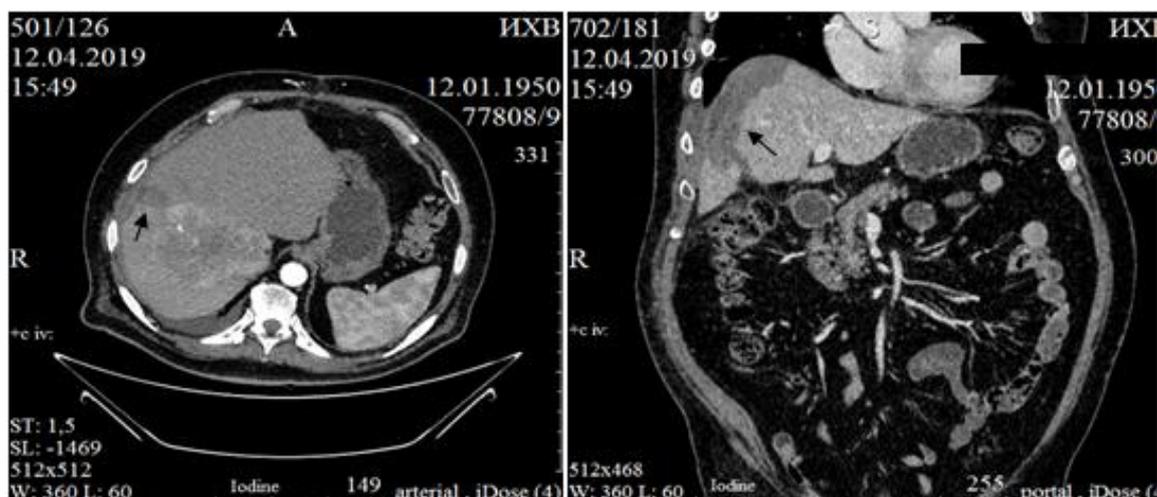


Рисунок 31 — МСКТ больного в аксиальной и коронарной проекциях после РЧА в плоскости резекции печени в динамике. Стрелкой показана зона некроза

Через 37 суток после RALPPS (23.04.19) больному выполнен второй этап операции - правосторонняя гемигепатэктомия с резекцией 1 сегмента. Интраоперационно левая доля печени увеличена в большей степени за счет 4 сегмента, правая доля атрофичная. В правой доле пальпаторно в проекции 5,6,7,8 сегментов определяется опухолевидное образование, размером 11 x 9 см, плотной консистенции, тесно прилегающее к нижней полой вене. Опухоль распространяется на 1 сегмент. На диафрагмальной поверхности печени, справа от серповидной связки на 6 см, определяется полоска рубцово-измененной паренхимы печени длиной 13 см (признаки ранее выполненной РЧА-изоляции правой доли печени). Отдаленных метастазов в брюшной полости не выявлено. Мобилизация правой и левой долей печени за счет пересечения серповидной, правой и левой венечной и треугольной связок. Наложен турникет на гепатодуоденальную связку, нижнюю полую вену в над- и подпеченочном сегментах, выполнен хэнгинг-маневр. Таким образом, выполнена тотальная сосудистая изоляция печени.

Начато разделение паренхимы печени с перевязкой и пересечением сосудисто-секреторных элементов. Правая печеночная артерия, правая ветвь воротной вены (ранее лигированная) и правый долевого печеночный проток перевязаны и пересечены интрапаренхиматозно add mass в связи с техническими трудностями и выраженной кровоточивостью печени. Пересечена, прошита и перевязана правая печеночная вена. Выполнено прошивание, перевязка, клипирование и пересечение коротких печеночных вен. Инвазии опухоли в нижнюю полую вену не выявлено. Выполнена правосторонняя гемигепатэктомия с резекцией 1 сегмента. Турникеты на гепатодуоденальной связке и нижней полой вене пережимались один раз на 3 мин. Гемостаз раневой поверхности печени прошиванием и коагуляцией. На рисунке 32 представлен вид операционного поля после удаления правой доли печени.

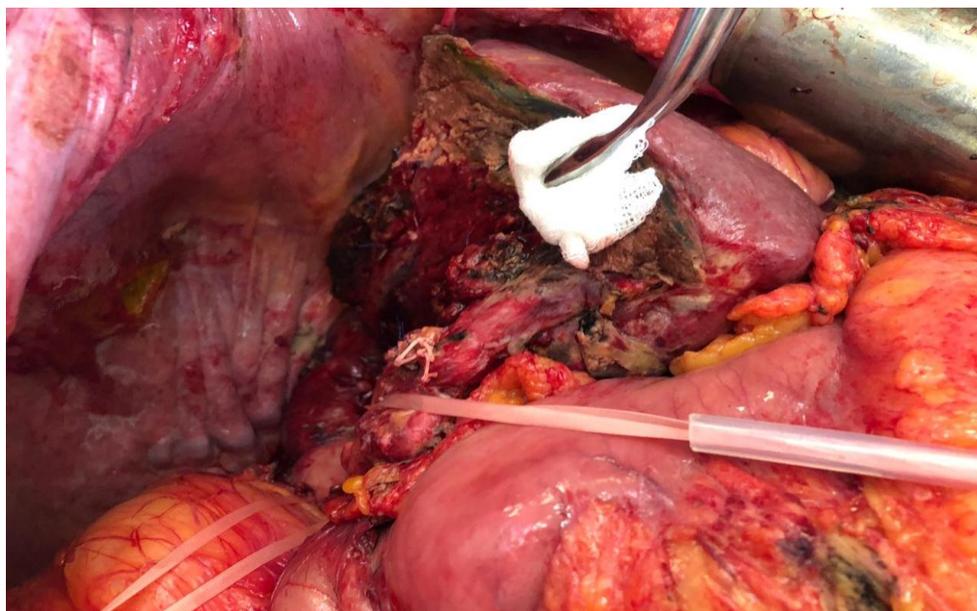


Рисунок 32 — Вид операционного поля после удаления правой доли печени с 1 сегментом

Заключение гистологического исследования № 12622-12646/19 - морфологическая картина соответствует умеренно дифференцированному холангиоцеллюлярному раку размерами 9,5х 9,5 х 8,0 см с периневральной, лимфоваскулярной и венозной инвазией. При иммуногистохимическом исследовании срезов с блока клетки опухоли обнаруживают экспрессию: Cytokeratin 19 (клон A53-B1/A2.26, Cell Marque) – мембранно-цитоплазматическую выраженную; MUC5AC (клон MRQ-19, Cell Marque) – гранулярную цитоплазматическую; HENT1 (клон SP120, SPRING) – слабую мембранную экспрессию в 40%; Ki67 (клон SP6, Cell Marque) – ядерную экспрессию в 40%.

Клетки опухоли негативны к: bcl-2 (Cell Marque, клон 124); Cytokeratin 20 (клон Ks20.8, Cell Marque); CDX2 (клон EPR2764Y, Cell Marque); GATA3 (клон L50-823, Cell Marque); TTF-1 (клон 8G7G3/1, Cell Marque); Synaptophysin (клон MRQ-40, Cell Marque); Chromogranin A (клон ДАК-А3, ДАКО); CD56 (клон 123С3.Д5, Cell Marque).

С учетом результатов гистологического и иммуногистохимического исследований опухоль печени соответствует умеренно дифференцированной внутрипеченочной холангиокарциноме. Макпрепарат представлен на рисунке 33 а,б.

Послеоперационный период протекал гладко, заживление раны первичным натяжением. Больной на 15-е сутки после операции в удовлетворительном состоянии выписан, рекомендовано проведение адьювантной СХТ.

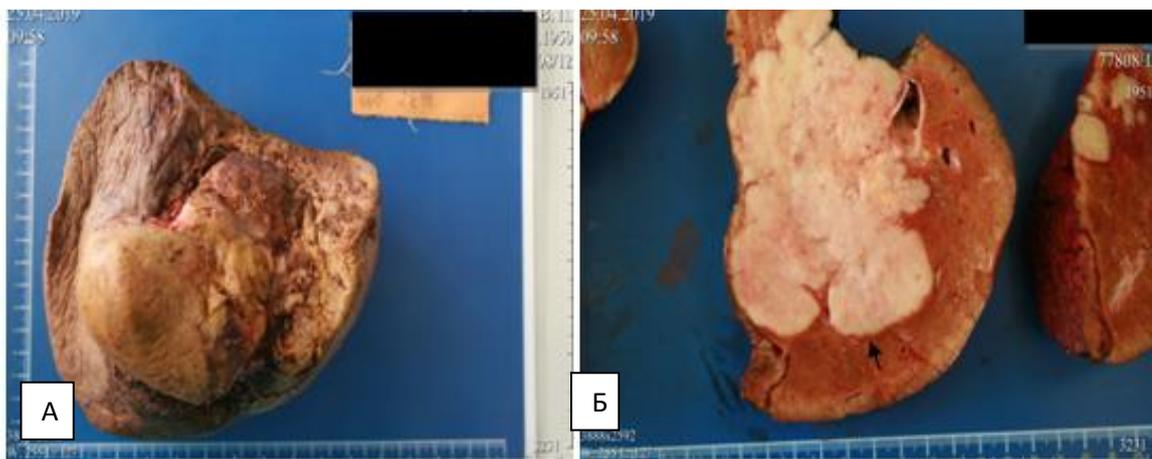


Рисунок 33 — Макропрепарат. А. крупная опухоль правой доли печени с инвазией в правую печеночную вену. Б. Вид опухоли на срезе

#### 4.4 Локальные методы лечения ВПХЦР

Как было сказано ранее (глава 2), локальные методы лечения ВПХЦР применялись для лечения пациентов, которых невозможно было оперировать радикально в связи с распространенностью процесса и коморбидными заболеваниями. Из них 2 (2,5%) пациентам была выполнена радиочастотная абляция (РЧА) опухоли, 1 (1,3%) пациенту – РЧА в сочетании с криоабляцией, 2 (2,5%) пациентам – трансартериальная химиоэмболизация (ТАХЭ), 1 (1,3%) – ТАХЭ в сочетании с криоабляцией. Более подробно остановимся на результатах лечения этих пациентов.

##### 4.4.1 Возможности РЧА при ВПХЦР

Трудной задачей является лечение пациентов с ВПХЦР, отягощенных наличием тяжелой сопутствующей соматической патологии. В лечении данной категории пациентов могут быть применены различные методы локорегионарной терапии.

Приводим клинический случай лечения больного с ВПХЦР на фоне цирроза печени с применением метода радиочастотной термоабляции опухоли без резекции печени.

**Больной Т.**, 71 год находился на обследовании и лечении в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского с 11.08.15 по 23.08.15. При обследовании (УЗИ, СКТ брюшной полости) выявлено очаговое гипervasкулярное образование 4,5 сегментов печени. Предварительный диагноз: гепатоцеллюлярный рак 4,5 сегментов печени на фоне цирроза печени. На рисунке 34 представлены данные МР-сканирования.

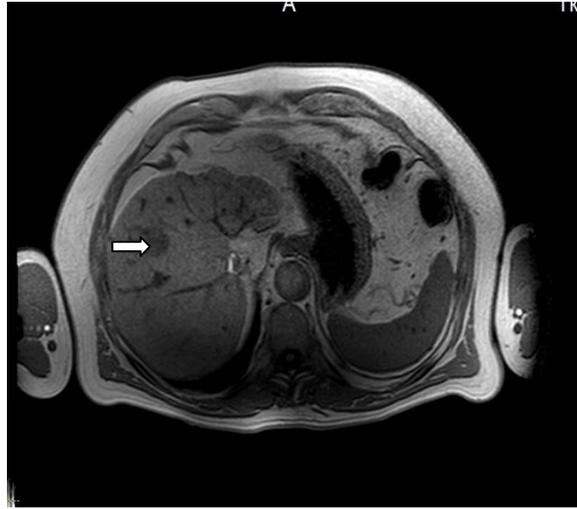


Рисунок 34 — МРТ больного: в S4,5 определяется опухоль (показана стрелкой)

12.08.15 больной оперирован, планировалась резекция 4-5 сегментов печени, холецистэктомия. J-образным разрезом послойно вскрыта брюшная полость. В брюшной полости незначительное количество асцитической жидкости. Печень в размерах несколько уменьшена, бордового цвета, поверхность с крупными узловыми изменениями, консистенция печени плотноватая - изменена за счет выраженных признаков цирроза. В области 4 сегмента с переходом на 5 и 8 сегменты печени располагается плотное образование с относительно ровными краями размерами до 4 см в диаметре. Желчный пузырь не увеличен в размерах. Патологических изменений в желудке, двенадцатиперстной кишке, поджелудочной железе, селезенке, тонкой и толстой кишке не выявлено.

При интраоперационном ультразвуковом исследовании паренхима печени цирротически изменена, в проекции 4,5,8 сегментов печени определяется объемное образование повышенной эхогенности 38 x 23 мм.

Учитывая выраженные признаки цирроза (наличие узлов-регенератов практически во всех отделах печени), а также распространение опухоли от резекции печени решено воздержаться. В связи с этим решено выполнить открытую РЧА указанного очага с дополнительной алкоголизацией. Для морфологической верификации цирроза печени и стадирования процесса выполнена эксцизионная биопсия печени.

Под ультразвуковым наведением визуализирован очаг и спланированы точки для установки электродов РЧА. Выполнена пункционная биопсия из очага. Далее проведена РЧА очага печени электродом Cool Tip с рабочей частью 3 см из 7 точек, с достижением температуры 83С. Область, не попавшая в зону РЧА дополнительно алкоголизована 55 мл 95% этилового спирта. Выполнен гемостаз с использованием би- и монополярного электрокоагулятора.

На МРТ, выполненной на следующий день после операции (рисунок 35), определяются послеоперационные изменения размерами 60х45мм. Данный участок выполнен кровью (гиперинтенсивный на T2ВИ), солидного компонента на этом уровне не определяется. Прилежащая паренхима печени не изменена.

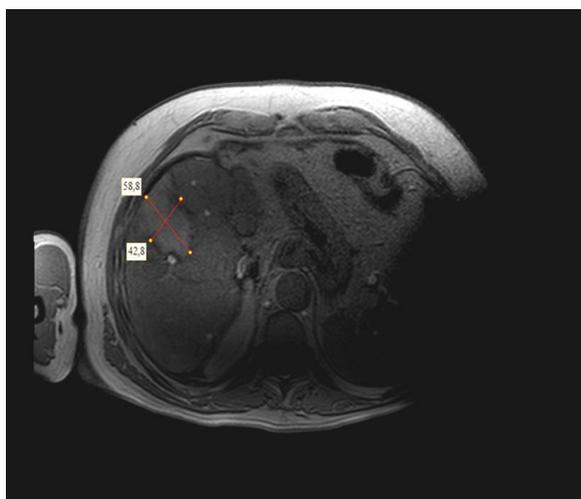


Рисунок 35 — МРТ, выполненная на следующий день после проведения РЧА (определяется зона некроза)

Послеоперационный период протекал гладко. Больной выписан на 12-е сутки после операции в удовлетворительном состоянии.

При иммуногистохимическом исследовании срезов с блока № 20007/15 клетки опухоли обнаруживают экспрессию: cytokeratin 7 (клон OV-TL 12/30, Cell Marque) - выраженную (+++) мембранно-цитоплазматическую; cytokeratin 19 (клон A53-B1/A2.26, Cell Marque) - выраженную (+++) мембранно-цитоплазматическую. Клетки опухоли негативны к Her-Par1 (клон OCH1E5, Cell Marque). Заключение: иммунофенотип холангиоцеллюлярного рака.

В последующем с целью динамического контроля проводились МРТ и УЗИ органов брюшной полости. МР-томограмма, выполненная через два года после операции представлена на рисунке 36. При этом печень уменьшена в размере с относительным сохранением объема сегментов правой доли. Контур печени бугристый, структура мелкоузловая. Внутрипеченочные желчные протоки сегментов 5, 8 печени расширены до 7-8 мм, прослеживаются до субкапсулярных отделов, сужение протоков в зоне фиброза 4,5,8 сегментов. Зона фиброза

окружает регенераторный узел размером 40x27x34 мм, с четко выраженными огибающими протоками по периферии, не ограничивает диффузию. Выявляется также диффузное изменение сигнала от паренхимы 5-8 сегментов за счет перераспределения кровоснабжения за зоной фиброза. Других очаговых сигнальных изменений не выявлено. Лимфатические узлы на уровнях сканирования не увеличены, не изменены. Признаков продолженного роста опухоли не выявлено. По сравнению с данными предыдущей МРТ без отрицательной динамики.

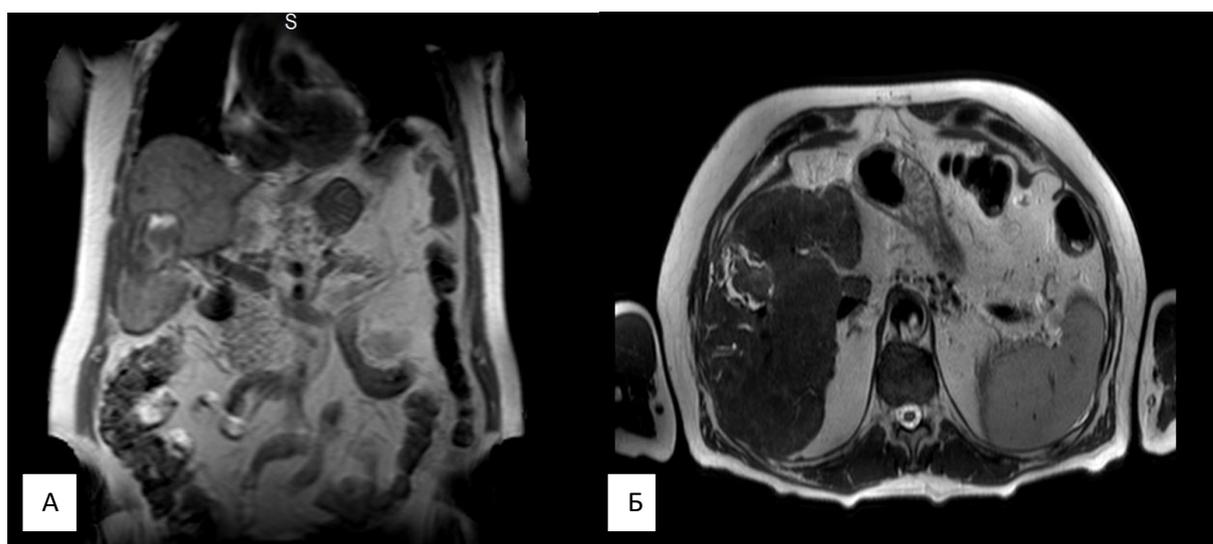


Рисунок 36— МР-томограмма, выполненная через два года после РЧА (признаков рецидива не выявлено). А. коронарная проекция. Б. аксиальная проекция

На ультразвуковом исследовании органов брюшной полости (рисунок 37), выполненном через 3 года 8 месяцев в проекции 4,5,8 сегментов печени сохраняется неоднородная зона инфильтративных изменений неоднородно повышенной эхогенности без четких контуров, размерами 52,5 x 51,5 x 47,8 мм. При дуплексном сканировании кровотоков в данной зоне не определяется. Внутривенные желчные протоки в зоне оперативного вмешательства расширены до 8,0–10,2 мм. На момент осмотра признаков рецидива опухоли не выявлено.



Рисунок 37 — Сонограмма, выполненная через 3 года и 8 месяцев после РЧА (признаков рецидива опухоли не выявлено)

В настоящем клиническом наблюдении продолжительность жизни пациента после открытой РЧА составила 44 месяца и дальнейшее наблюдение продолжается. Таким образом, у больного после проведения РЧА с алкоголизацией холангиоцеллюлярного рака 4,5,8 сегментов печени данных за рецидив опухоли не выявлено. Больной в послеоперационном периоде неоднократно был консультирован онкологом. Ввиду отсутствия признаков продолженного роста в зоне РЧА на фоне цирроза печени химиотерапия не проводилась. Продолжается динамическое наблюдение.

На сегодняшний день радикальное хирургическое вмешательство остается наиболее предпочтительным методом лечения ВПХЦР. Однако, с учетом большого числа пациентов с нерезектабельным ВПХЦР на момент обращения вследствие распространенности процесса, а также высокую частоту рецидива заболевания после радикального лечения, интерес представляют альтернативные методы лечения данной опухоли, в частности, РЧА.

В данном клиническом наблюдении клиническом наблюдении была проведена открытая РЧА, что возможно и обуславливает высокую эффективность лечения, поскольку доступность и визуализация опухоли была оптимальной.

Таким образом, учитывая существующие неудовлетворительные исходы хирургического лечения ВПХЦР, стоит отметить, что основополагающей должна быть агрессивная хирургическая тактика, направленная на достижение R0-

резекции. Проблему лечения резектабельного ВПХЦР следует решать сочетанием стандартных и расширенных операций с лучевыми и химиотерапевтическими методами лечения.

Однако, в тщательно подобранных случаях, при рецидиве опухоли, ее малом размере (менее 4 см), у пациентов, отягощенных сопутствующими патологиями с высоким операционно-анестезиологическим риском РЧА может являться методом выбора лечения.

#### **4.4.2 Возможности ТАХЭ, сочетания ТАХЭ с криоаблацией при ВПХЦР**

Трансартериальная химиоэмболизация в качестве основного метода лечения выполнена 3 пациентам, у которых выявлена местнораспространенная нерезектабельная опухоль, причем у двух пациентов нерезектабельность выявлена во время лапаротомии. У одного пациента ТАХЭ сочеталась с криодеструкцией опухоли. В качестве основного препарата во всех случаях использовался доксорубин из расчета  $50 \text{ мг/м}^2$ . Во всех случаях в качестве эмболизирующего препарата использовался липиодол.

Для выполнения ТАХЭ под комбинированной анестезией выполнялась пункция и катетеризация плечевой артерии или общей бедренной артерий. Устанавливался интродьюсер 5F. Катетером Cobra 5F и микрокатетером селективно был катетеризирован чревный ствол, выполнялась целиакография. Поочередно селективно катетеризировались правая и левая печеночные артерии, выполнялась масляная химиоэмболизация раствором липиодола (20-30 мл) и доксорубина ( $50 \text{ мг на кг/м}^2$ ).

Для оценки эффективности ТАХЭ через 1,5-2 месяца проводилась МСКТ с внутривенным контрастированием. Через 2 месяца у всех пациентов были признаки прогрессирования опухолевого процесса, в связи с чем, им была назначена системная химиотерапия препаратами платины и пиримидинового ряда. Общая выживаемость пациентов с момента выполнения ТАХЭ составила 8 и 11 месяцев.

Небольшая выборка пациентов не позволяет делать выводы об эффективности ТАХЭ в лечении ВПХЦР как изолированного метода локорегионарной терапии. Возможно, недостаточная эффективность обусловлена плохой васкуляризацией опухоли, а также отсутствием влияния доксорубина на эту опухоль. Необходимы дальнейшие исследования по оценке эффективности ТАХЭ в процессе увеличения выборки пациентов, а также с использованием других лекарственных препаратов.

С другой стороны, при сочетании ТАХЭ с криоаблацией опухоли была достигнута длительная ремиссия у одной больной и заслуживает отдельного обсуждения.

**Больная Ч.**, 57 лет, обратилась в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского с жалобами на боль в правом подреберье, слабость в марте 2012 год. По МСКТ выявлено очаговое образование в 4 сегменте печени размером до 7 см с распространением на 1,3,5,6,7 сегменты печени. В связи с местной нерезектабельностью опухоли на первом этапе выполнена криоабляция (февраль 2013г.) опухоли печени, лимфаденэктомия. По данным гистологического и иммуногистохимического исследований установлен диагноз внутripеченочного холангиоцеллюлярного рака. В апреле 2013 года проведен первый сеанс ТАХЭ доксорубином на фоне чего развилась стабилизация процесса (рисунок 38). В дальнейшем больной выполнено 6 сеансов ТАХЭ с интервалом 3-4 месяцев. Прогрессирование заболевания в виде увеличения образования и появления отсевов развилось через 17 месяцев после выполнения криоабляции (рисунок 39), в связи с чем больная переведена на системную химиотерапию препаратами платины и пиридинового ряда.

Таким образом, выживаемость пациентки составила 46 месяцев с момента выявления очагового образования печени. Лечение пациентов с ВПХЦР с применением ТАХЭ и криоабляции с подобными результатами в литературе не описаны. Этот аспект требует дальнейшего изучения.

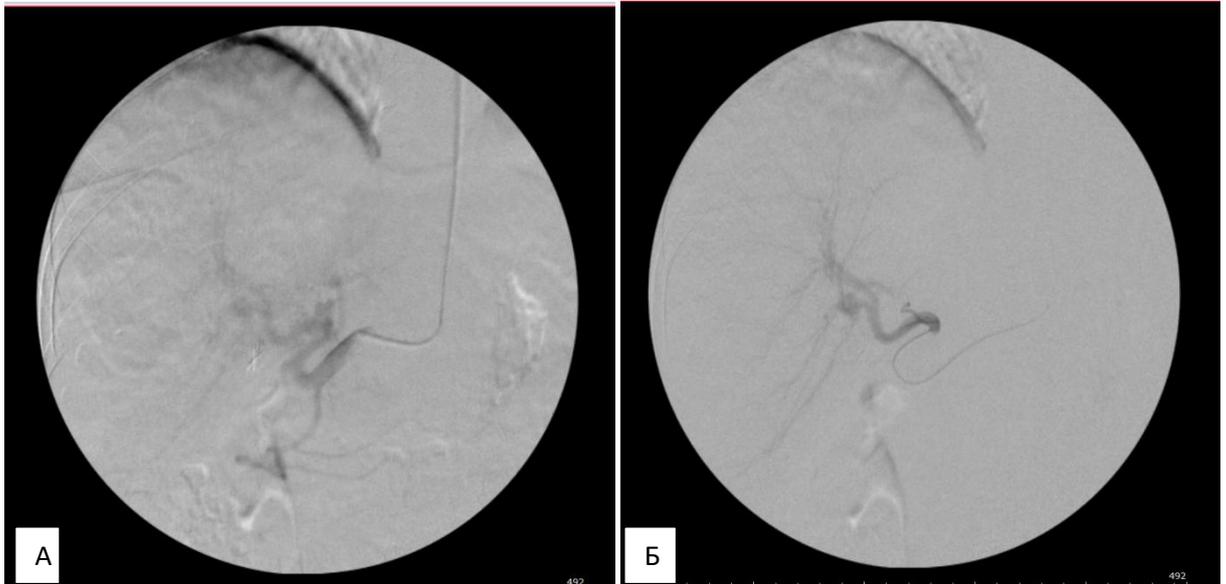


Рисунок 38 — Этапы ТАХЭ. А: катетеризирована общая печеночная артерия, Б: отмечается редукция кровотока после химиоэмболизации



Рисунок 39 — МСКТ после прогрессирования опухоли. Определяется массивная опухоль с центральным расположением

#### 4.5 Послеоперационные осложнения и летальность

Все возникшие осложнения условно можно разделить 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, тромбоэмболические, 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 является послеоперационная печеночная недостаточность, которая развилась у 7 (14,8%) пациентов из группы больших резекций печени. Основными проявлениями данного осложнения является повышение активности трансаминаз, щелочной фосфатазы, гипокоагуляция, гипопроteinемия. Клинически значимая печеночная недостаточность у пациентов из группы малых резекций печени не наблюдалась. В 6 случаях из пяти 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. При этом максимальная кровопотеря, которая имела место у больного с ВПХЦР 4,5,7,8 сегментов печени, которому выполнялась расширенная правосторонняя гемигепатэктомия (двухэтапная резекция печени с применением технологии ALPPS) была 3,5 л. 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.

При проведении сравнительного анализа объема интраоперационной кровопотери в обеих группах методом Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия в объёме кровопотери у пациентов с различным объемом резекции печени ( $p < 0,001$ ) (рисунок 40).

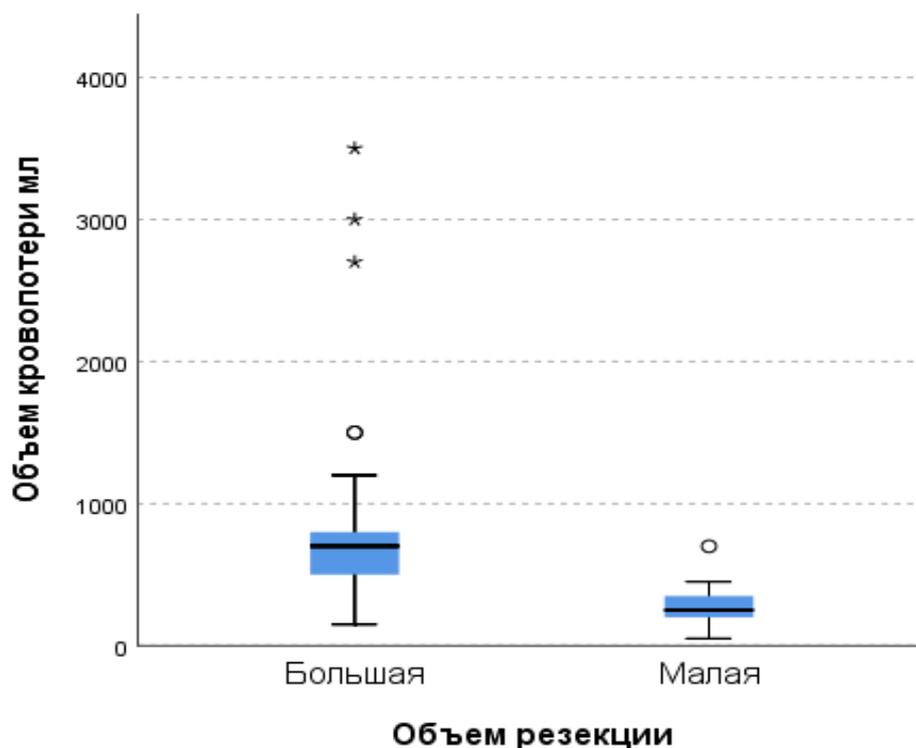


Рисунок 40 — Сравнительный анализ объема кровопотери в группах больших и малых резекций методом Манна-Уитни

Было выполнено определение общей выживаемости двух групп в зависимости от объема операции по данным анализа дожития Каплан-Меера с критерием log-rank (рисунок 41).

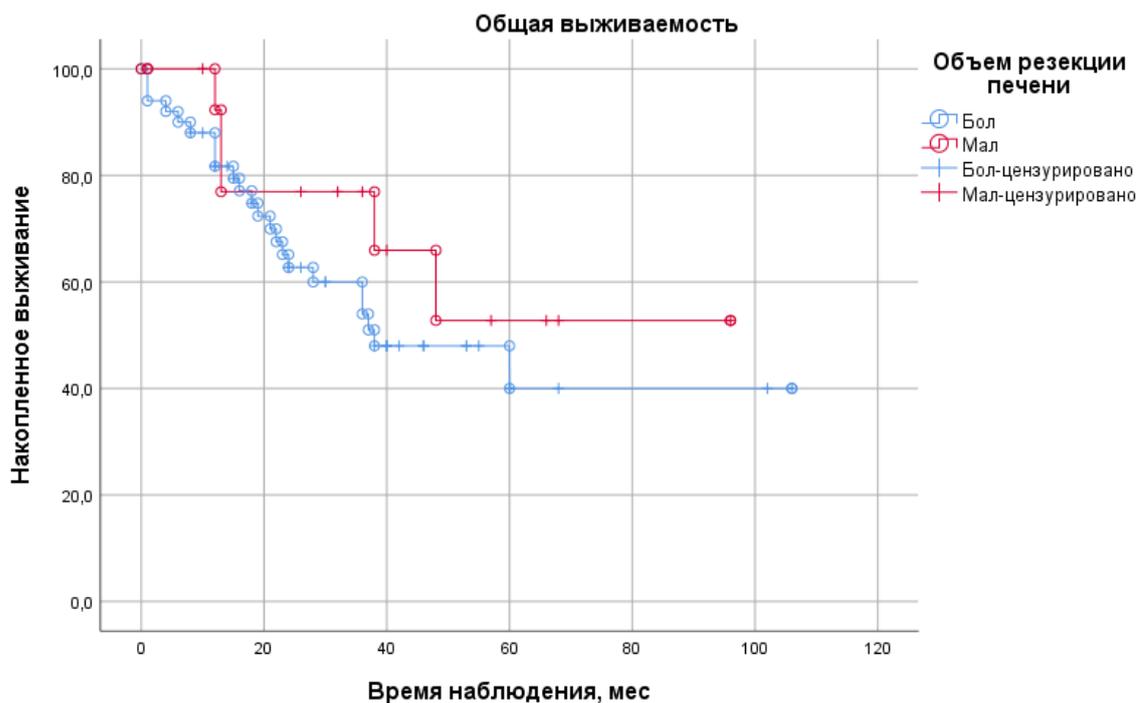


Рисунок 41 — Анализ общей выживаемости в группах больших «истинно» анатомических и малых (сегменториентированных) резекций печени методом Каплана-Меера

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

Также была проведена оценка частоты развития кровотечений в раннем послеоперационном периоде. У больных из группы «истинно» анатомических резекций печени послеоперационное кровотечение развилось у 2 (4,2%) больных. Релапаротомия потребовалась в одном случае. При этом на момент релапаротомии явного источника кровотечения не было выявлено. Вероятнее всего, причиной кровотечения явилась зона резекции печени, и операция, у обоих больных заключалась в санации и дренировании брюшной полости. У другого больного кровотечение удалось остановить консервативными мероприятиями. Также у 3 (6,3%) больных из группы больших резекций печени имели место гематомы в зоне резекции печени, которые были успешно разрешены путем пункции и дренирования под ультразвуковой навигацией. У больных из группы малых резекций печени продолжающееся послеоперационное кровотечение не

развилось ни в одном случае. У 2(10%) из группы сегменториентированных резекций было выявлено скопление крови (гематомы) в зоне резекции печени размерами 6см и 8см по данным УЗИ. В одном случае потребовалось дренирование гематомы под ультразвуковой навигацией.

Эвентрация развилась у 2 (4,2%) пациентов из группы анатомических (больших) резекций печени. Необходимо сказать, что эвентрация развилась на фоне печеночной недостаточности у двух пациентов, которым выполнена расширенная гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков. При этом, в одном случае (подкожная эвентрация) выполнялось повторное ушивание апоневроза под общей анестезией, во втором случае - ушивание апоневроза не проводилось (фиксированная эвентрация) и послеоперационная рана зажила вторичным натяжением после наложения вторичных швов на кожу и подкожно-жировую клетчатку по Каншину. В последнем случае в отдаленном послеоперационном периоде развилась послеоперационная грыжа. У больных из группы малых резекций печени эвентрации не было.

У 3 (6,4%) пациентов из группы больших резекций печени и одного пациента из группы малых резекций печени (резекция 4б и 5 сегментов печени с резекцией гепатикохоледоха) в сочетании с резекцией желчных протоков отмечалось выделение желчи (желчный свищ) по страховочным дренажам вследствие несостоятельности гепатикоеюноанастомоза. Во всех случаях желчный свищ закрылся самостоятельно на фоне консервативных мероприятий. Кроме того, в 3 (6,4%) случаях при выполнении больших резекций печени наблюдалось скопление желчи (затеки) в поддиафрагмальном пространстве и в зоне резекции печени. Во всех случаях затеки дренировались под ультразвуковой навигацией, и, как правило, желчные свищи закрывались самостоятельно на фоне антибактериальной терапии.

Гнойные осложнения со стороны послеоперационной раны развились у 5 больных (10,6%) из группы больших резекций печени и 1 больного (5%) из группы малых резекций печени. Для лечения этих раневых осложнений применялись общепринятые методы лечения гнойных ран на фоне

антибактериальной терапии, согласно чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Послеоперационный период 5 больных (4 (8,5%) больных из группы больших резекций и 1 (5%) больного из группы малых резекций) осложнился внутрибольничными пневмониями и ателектазами легких, которые купировались консервативными мероприятиями и антибактериальной терапией. Реактивный плеврит развивался у всех пациентов из группы «истинно» анатомических резекций (100%) и 4 (20%) больных из группы сегменториентированных резекций. При этом плевральные пункции выполнили 12(25%) пациентам первой группы при наличии выпота более 300 мл по данным УЗИ. У 1 (5%) пациента из группы малых резекций печени развилась немассивная тромбоэмболиями легочной артерии, которая разрешилась на фоне консервативных мероприятий.

В раннем послеоперационном периоде у 2 пациентов (1 (2,12%) из группы анатомических резекций печени и 1(5%) из группы сегменториентированных резекций печени) развился послеоперационный панкреатит. Во всех случаях панкреатит носил характер отека поджелудочной железы (отечный, интерстициальный панкреатит) с гиперамилаземией, который удалось купировать консервативными мероприятиями (ингибиторы протеаз, сандостатин, нестероидные противовоспалительные средства). Кроме того, у 1 больного (2,13%) из группы больших резекций печени развился дуоденальный свищ, который самостоятельно закрылся

Частота и тяжесть возникших послеоперационных осложнений классифицированы по Clavien-Dindo (2004 г.) (Приложение 5).

В таблице 14 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 14 — Ранние послеоперационные осложнения по Clavien-Dindo в зависимости от объема резекции печени

Осложнения	Анатомические резекции печени (n= 47)		Сегменториенторованные резекции печени (n=20)		p
	Абс. число	%	Абс. число	%	
Степень I					
Нагноение послеоперационной раны	5	10,6	1	5	0,46
Лимфорея	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	<b>0,04</b>
Пневмония	5	10,6	1	5	0,46
Транзиторная печеночная недостаточность	4	8,5	-	-	-
Панкреатит (отечный)	1	2,1	1	5	0,28
Несостоятельность гепатикоеюноанастомоза	3	6,3	1	5	<b>0,032</b>
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)		Сегменториенторованные резекции печени (n=20)		p
	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, острый послеоперационный панкреатит, а также тромбоэмболия легочной артерии после расширенной правосторонней гемигепатэктомии. Во втором случае причиной летального исхода явились прогрессирующая печеночная недостаточность, рецидивирующее гипокоагуляционное, аррозийное кровотечение и некроз печени с абсцедированием.

## ГЛАВА 5. ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ВПХЦР

### 5.1 Отдаленные результаты в зависимости от клинико-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). Безрецидивная выживаемость составила: 1-летняя - 68%, 3-летняя - 16%, 5-летняя — 9% (рисунок 43).

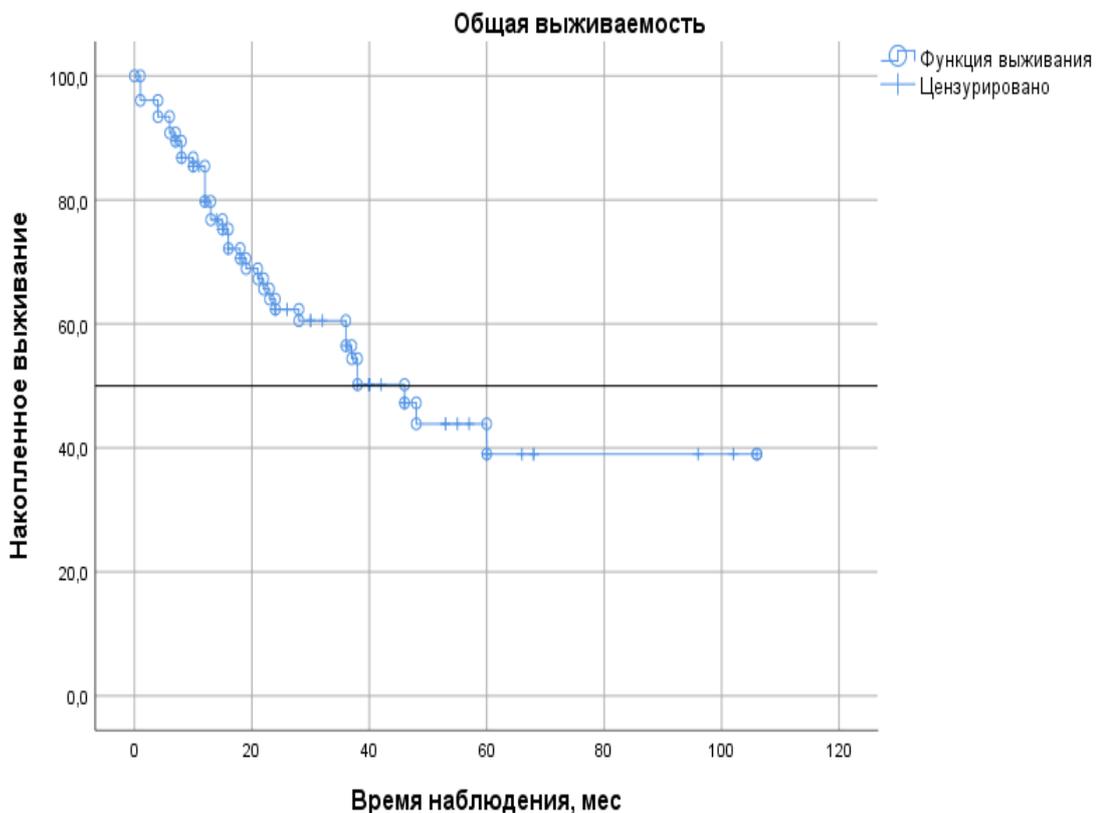


Рисунок 42 — Кривая кумулятивной общей выживаемости Каплана-Меера для анализируемой группы после хирургического лечения

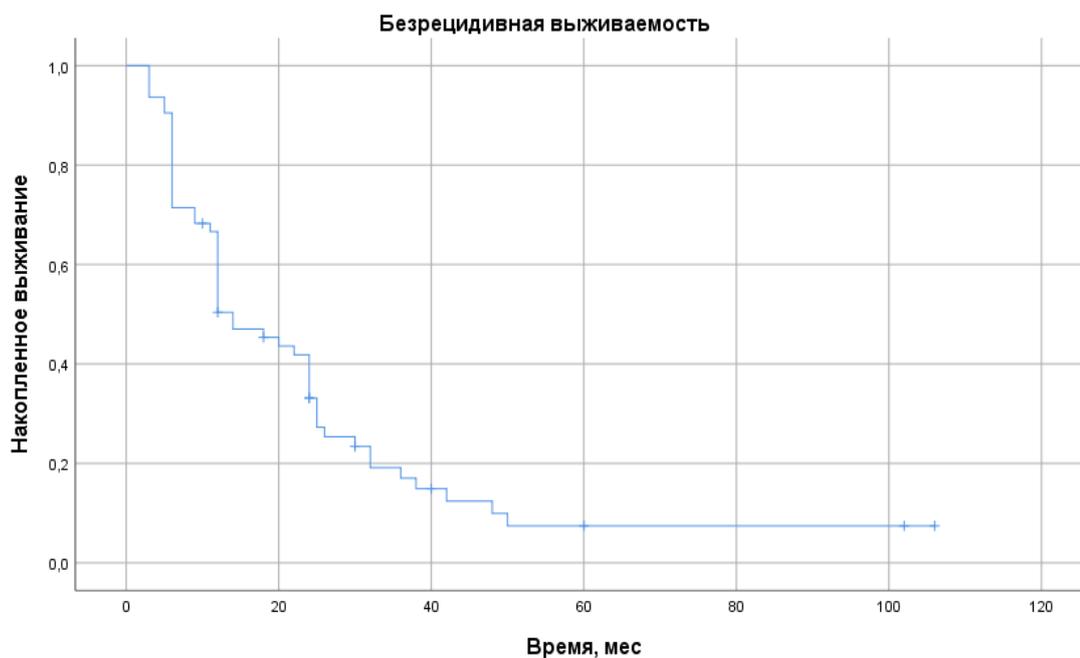


Рисунок 43 — Кривая кумулятивной безрецидивной выживаемости Каплана-Меера для анализируемой группы после хирургического лечения

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 15.

Для выявления наиболее значимых независимых факторов риска в рассматриваемой выборке пациентов выполнен многофакторный анализ. Многофакторный анализ проводили методом множественной регрессии Кокса. В анализ включили переменные, которые по результатам однофакторного анализа имели  $p < 0,1$ , а именно: пол, возраст, инвазия капсулы, периневральная инвазия, состояние края резекции, стадия заболевания, проведение химиотерапии, мутации

генов *IDH1/2*, *MET*, наличие метастазов в л/у, степень дифференцировки, стадия процесса.

Таблица 15 — Однофакторный анализ факторов, влияющих на общую выживаемость в отдаленном послеоперационном периоде

Фактор	Значимость (p)	ОР (95% ДИ)
Пол	<b>0,046</b>	
М		1
Ж		0,49 (0,24-0,99)
Возраст	<b>0,029</b>	1,037 (1,004-1,071)
Инвазия капсулы	<b>0,039</b>	
Да		1,039 (0,97-1,98)
Нет		1
Периневральная инвазия	<b>0,046</b>	
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	<b>0,001</b>	
R0		1
R1	<b>0,005</b>	5,01 (1,64-15,30)
R2	<b>0,001</b>	11,43 (2,65-49,37)
Стадии процесса	<b>0,004</b>	
1		1
2	<b>0,039</b>	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 >500мл		0,79 (0,54-1,16) 1
Химиотерапия Да Нет	<b>&lt;0,001</b>	1 2,50 (1,68-3,73)
Мутация IDH Да Нет	<b>0,043</b>	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	<b>0,001</b>	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 16.

Таблица 16 — Многофакторный анализ факторов, влияющих на выживаемость в отдаленном послеоперационном периоде

Фактор	Значимость (p)	ОР (95% ДИ)
Состояние края резекции	<b>0,031</b>	
R0		1
R1	0,045	1,73 (1,11-2,69)
R2	0,011	3,01 (1,61-5,64)
Возраст	<b>0,006</b>	1,10 (1,03-1,18)
Наличие метастазов в регионарных лимфоузлах	<b>0,003</b>	
Да		9,43 (2,17-41,00)
Нет		1
Инвазия в капсулу печени		
Да	<b>0,047</b>	4,5 (2,7-5,12) 1

Нет		
Периневральная инвазия	<b>0,037</b>	6,2 (5,78-8,2)
Да		1
Нет		
Химиотерапия	<b>&lt;0,001</b>	
Да		1
Нет		12,83 (3,39-48,52)
Мутация <i>IDH</i>	<b>0,037</b>	0,76 (0,046-0,98)
Да		1
Нет		
Мутация <i>MET</i>	<b>0,025</b>	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 44). 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 17).

Таблица 17 — 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%

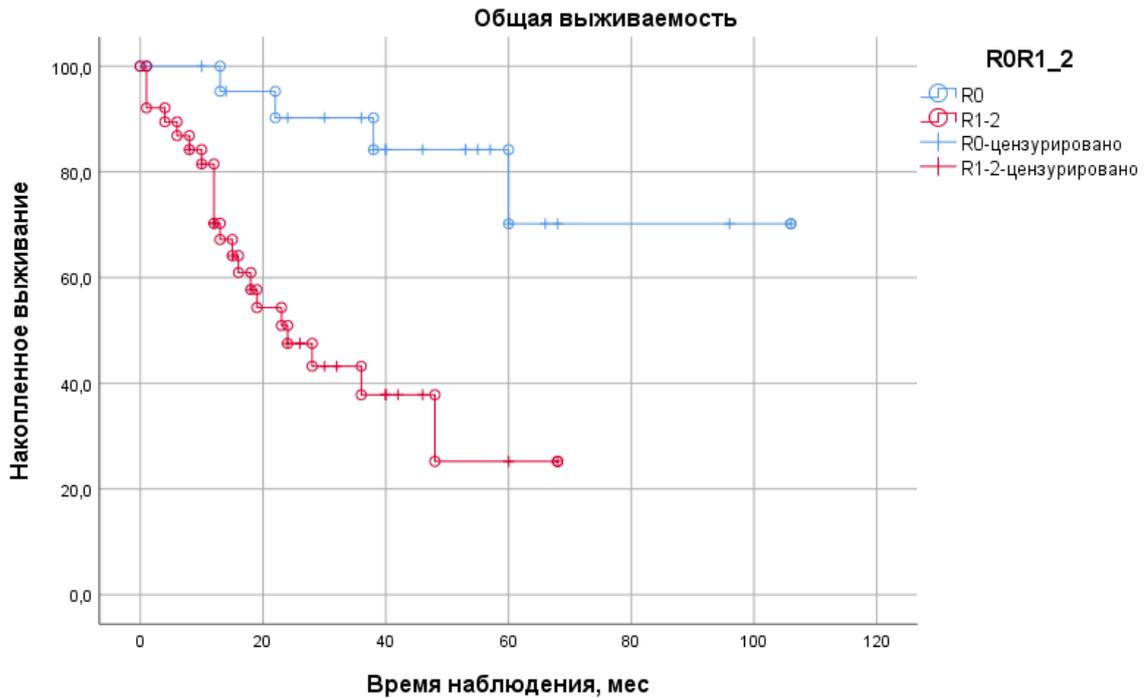


Рисунок 44 — Анализ выживаемости пациентов в зависимости от радикальности операции. R0 – удаление опухоли в пределах здоровых тканей; R1 – микроскопические признаки опухолевых клеток в крае резекции; R2 – макроскопические признаки опухолевых тканей в крае резекции

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

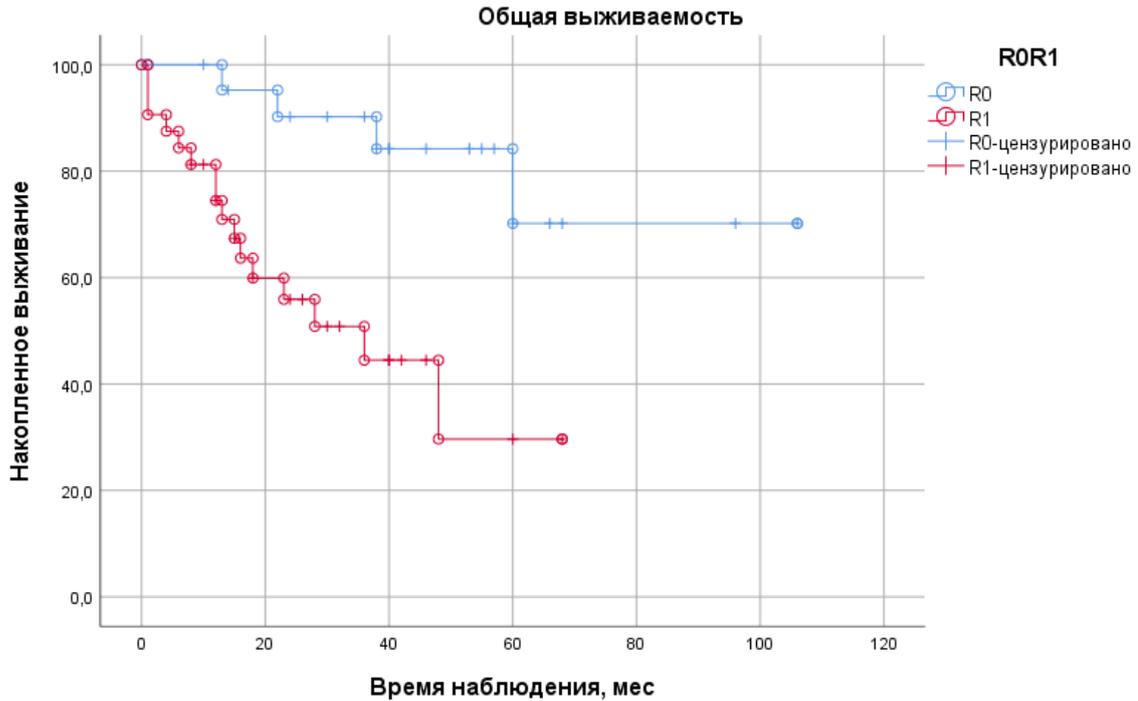


Рисунок 45 — Анализ выживаемости методом Каплана-Меера пациентов в зависимости от радикальности операции. R0 – удаление опухоли в пределах здоровых тканей; R1 – микроскопические признаки опухолевых клеток в крае резекции

По данным log rank теста различия в общей выживаемости были статистически значимы ( $p=0,002$ ) (рисунок 45).

## 5.2 Отдаленные результаты в зависимости от молекулярно-генетических факторов

Общая 3-летняя выживаемость (рисунок 46) 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.

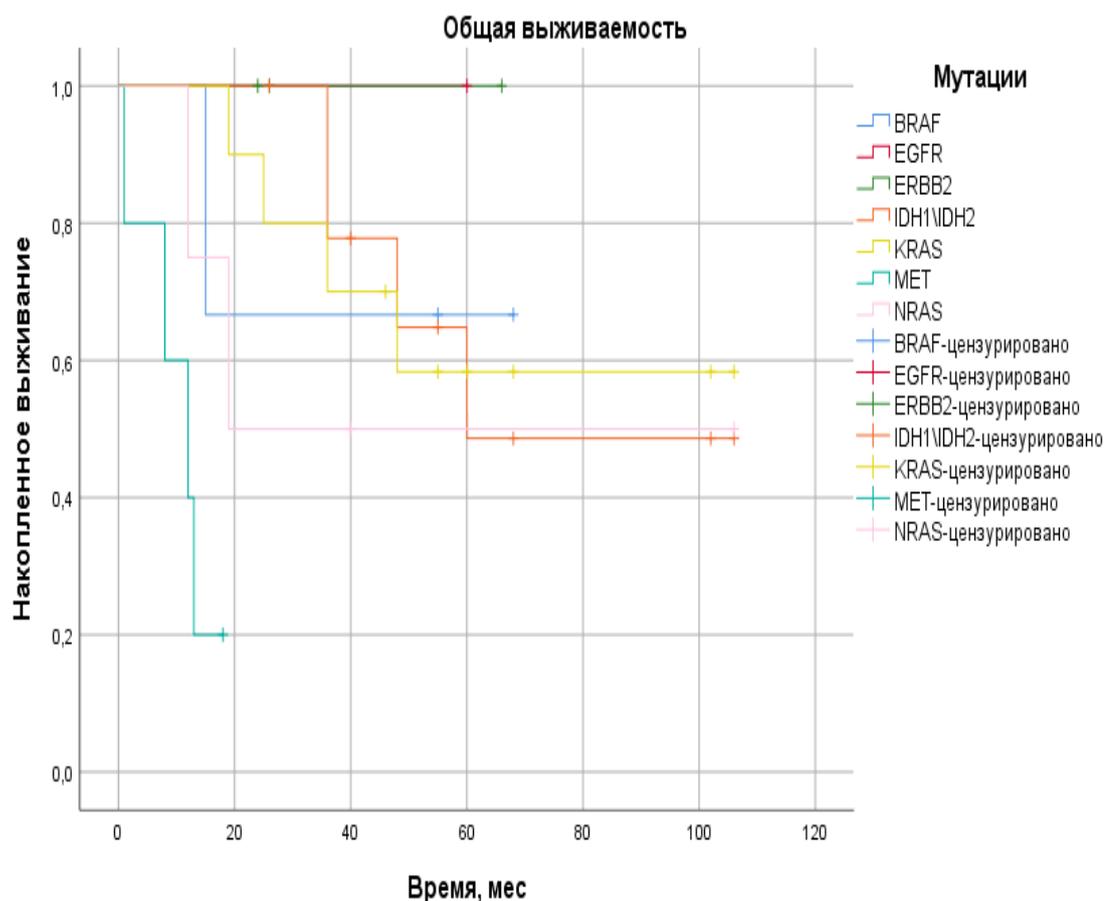


Рисунок 46 — Общая 3-летняя выживаемость пациентов  
в зависимости от наличия мутации

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 [178, 189].

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*. Однако для других мутаций достоверных различий получено не было.

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 47).

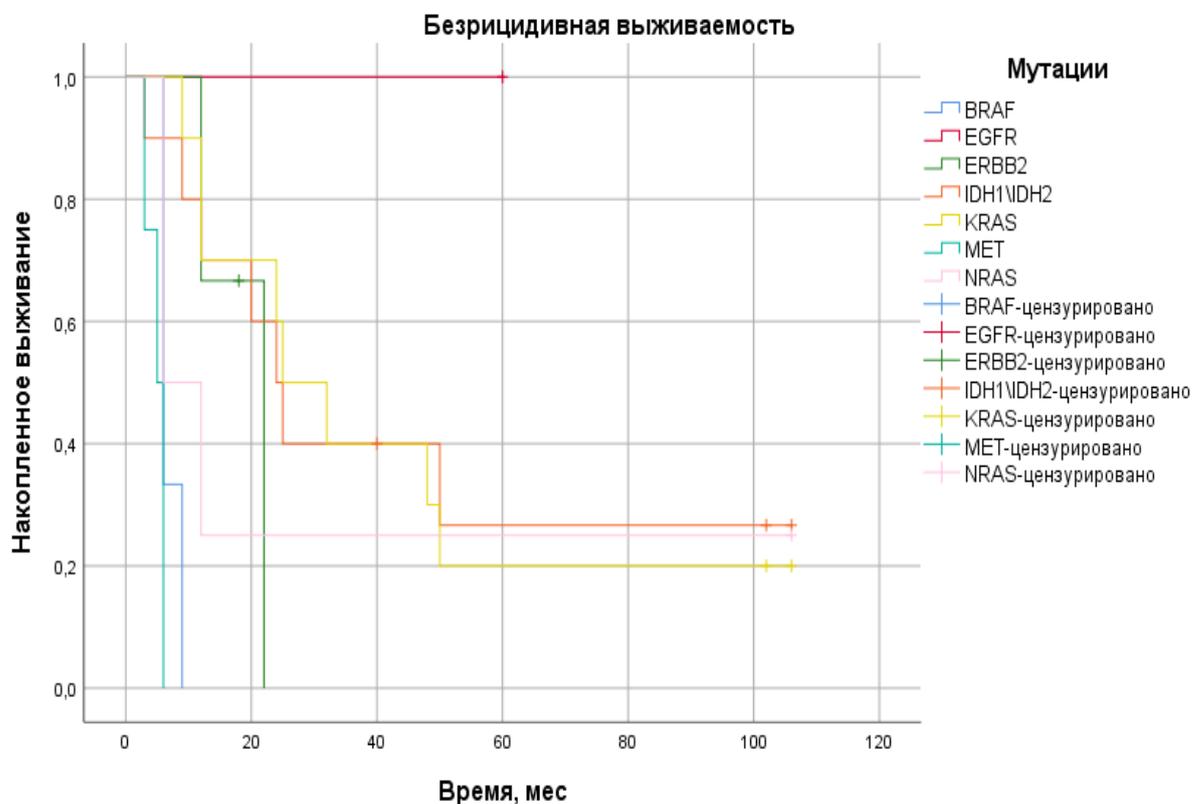


Рисунок 47— Безрецидивная 3-летняя выживаемость у пациентов с различным мутационным статусом

В дальнейшем выполнен анализ выживаемости методом Каплан-Мейера с определением критерия Log Rank (таблица 18), а также однофакторный (таблица 15) и многофакторный (таблица 16) анализ для оценки влияния на выживаемость наиболее часто выявленных мутаций, а именно мутаций генов *IDH1/2*, *KRAS*, *MET*, на которых можно подробнее остановиться.

Таблица 18 — 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 групп пациентов с наличием мутации генов *IDH1/2* была лучше, чем группы больных с диким типом гена *IDH1/2*. Различия были статистически значимыми ( $p=0,048$ ) (таблица 18, рисунок 48).

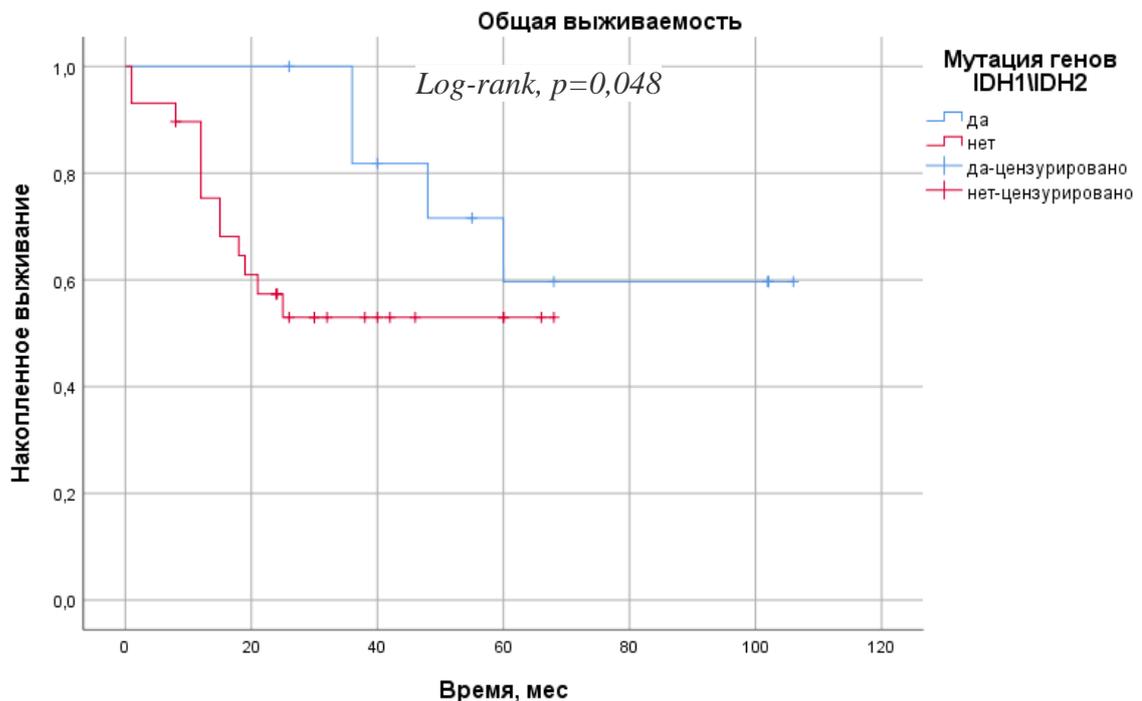


Рисунок 48 — Общая выживаемость пациентов с мутированным и диким типом генов *IDH1/2* методом Каплан-Мейера с критерием Log Rank

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 (рисунок 49).

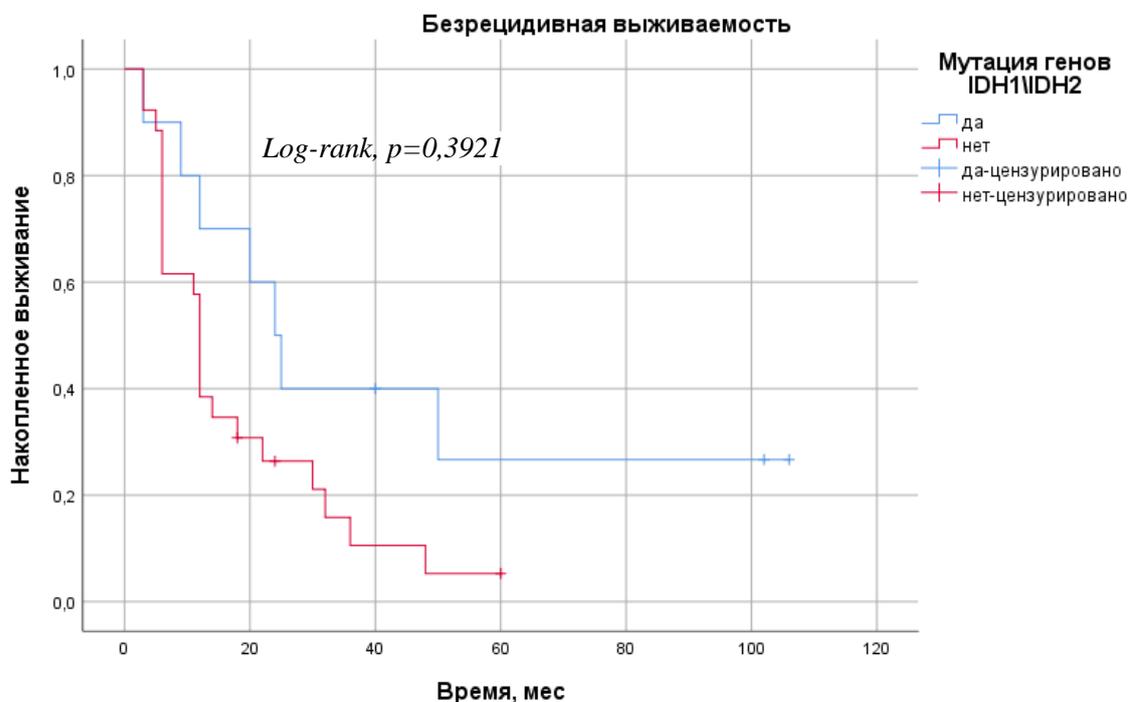


Рисунок 49 — Безрецидивная выживаемость пациентов с мутированным и диким типом генов *IDH1/2* методом Каплан-Мейера с критерием Log Rank

При выполнении однофакторного и многофакторного анализа также получены аналогичные результаты, т.е. мутация генов *IDH1/2* является независимым благоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости (таблицы 15 и 16).

### Мутация генов *KRAS*

В настоящее время в отечественной литературе не представлены данные по оценке влияния *KRAS*-мутации на клиническое течение при ВПХЦР, хотя, мутация гена *KRAS* одна из наиболее частых мутаций при этом типе рака. 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 50.

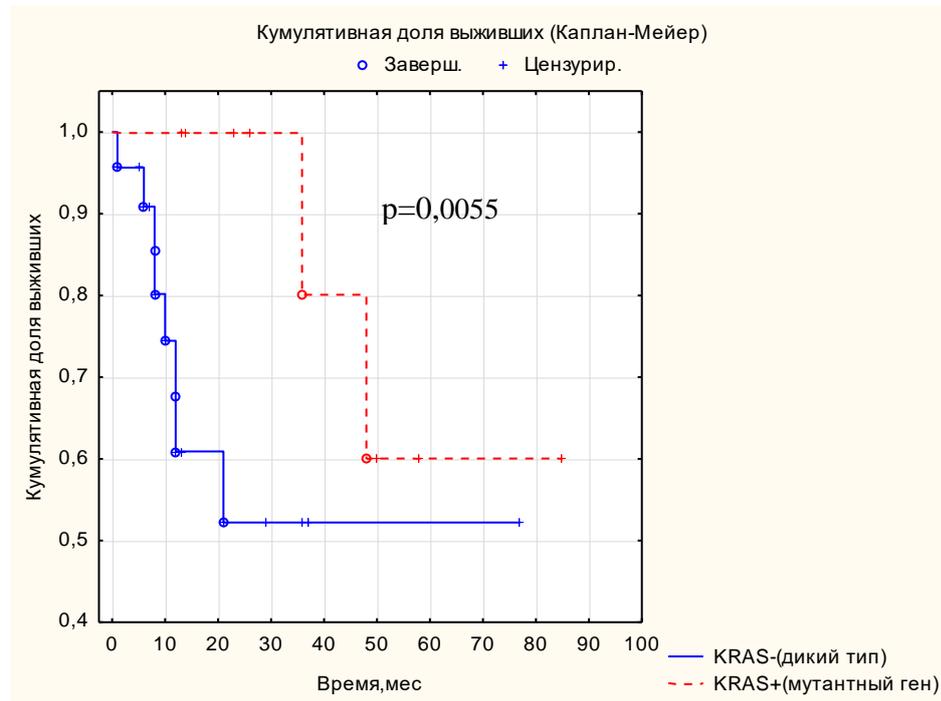


Рисунок 50 — Анализ влияния мутации гена *KRAS* на общую выживаемость методом Каплан-Мейера с определением теста Кокса-Ментела

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. 41), 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 ( $p=0,02$ ) (таблица 18) Однако при выполнении однофакторного и многофакторного анализа (таблицы 15 и 16) мутация гена *KRAS* не оказала влияния на общую выживаемость.

Влияние мутации в гене *KRAS* на безрецидивную выживаемость представлены на рисунке 51.

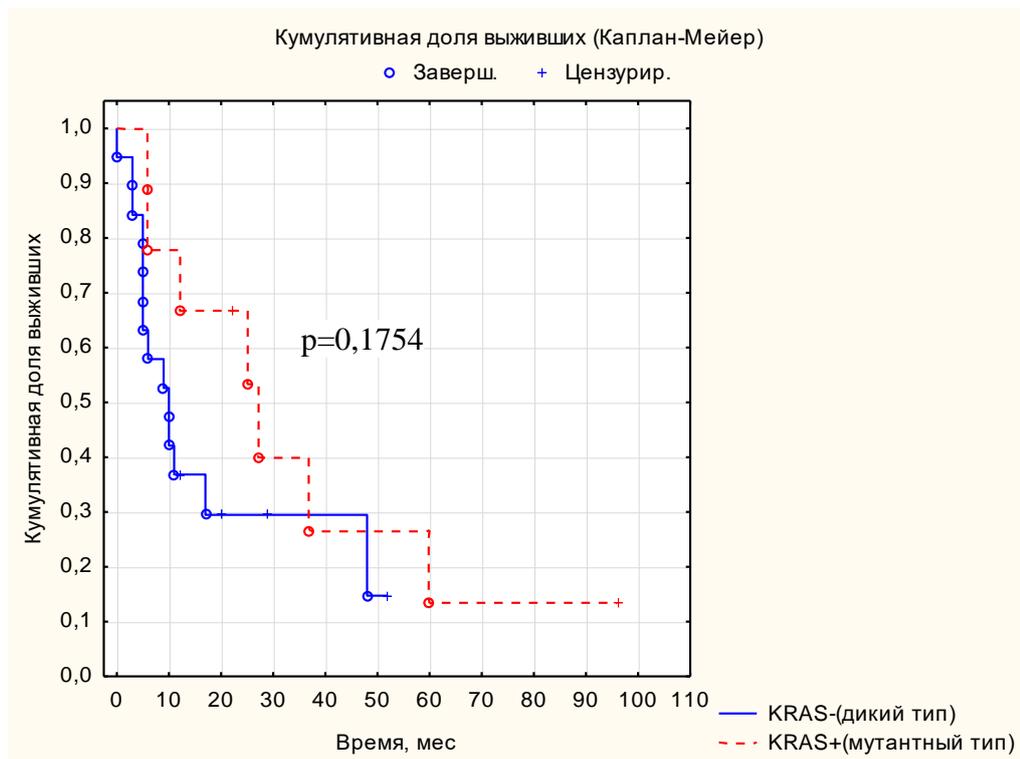


Рисунок 51 — Анализ влияния мутации гена *KRAS* на безрецидивную выживаемость методом Каплан-Мейера с определением теста Кокса-Ментела

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.

Таким образом, на данном этапе исследования нельзя однозначно сказать, что мутация гена *KRAS* имеет прогностическое значение при ВПХЦР.

### 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* ( $p<0,001$ ) (рисунок 49, таблица 18). Возможно, это обусловлено

повышенным инвазивным потенциалом таких опухолевых образований в связи с действием мутированного гена *MET*. Однофакторный анализ (таблица 15) показал, что ген *MET* ассоциирован с негативным прогнозом в отношении общей выживаемости при внутривенной холангиокарциноме ( $p=0,001$ ). По данным многофакторного анализа (таблица 16) 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 (рисунки 37 и 38).

Другие изученные мутации (*PIK3CA*, *EGFR*, *ERBB2/HER2*, *BRAF*) встречались с небольшой частотой и, ввиду небольшой выборки, невозможно оценить их влияние на результаты комбинированного лечения. Тем не менее, результаты лечения пациентов с данными мутациями представляют клинический интерес.

### **Мутация гена *PIK3CA***

В нашем исследовании распространенность мутации *PIK3CA* составила 10% (4 пациента). В отношении выживаемости пациенты с мутацией гена *PIK3CA* после хирургического лечения имели неблагоприятный прогноз. Из наблюдаемых нами 1 пациентка в настоящее время жива (36 месяцев). Рецидив на фоне химиотерапии наступил через 18 месяцев после операции. Наступило 3 летальных исхода через 26,36 и 48 мес. У этих пациентов рецидив наступил в течение 9-24 мес. после операции.

### **Мутация (амплификация) гена *ERBB2/HER2***

Распространенность мутации (амплификации) *ERBB2* составила 7% (3 пациента). Один пациент жив после хирургического лечения в течение 26 месяцев, рецидив произошел через 12 месяцев. Две пациентки умерли через 66 и 24 месяца, в обоих случаях рецидив наступил, через 24 и 18 месяцев соответственно.

### Мутация гена *EGFR*

По нашим данным частота мутации *EGFR* составила 2% (1 пациент).

Общая выживаемость больной после левосторонней гемигепатэктомии по поводу ВПХЦР составила 60 месяцев. В настоящее время больная жива, признаков рецидива опухоли не выявлено. Наблюдение продолжается

### Мутация гена *BRAF*

В нашем исследовании мутация гена *BRAFV600* была выявлена у 7%(n=3) пациентов обследованных пациентов. Несмотря на небольшую распространенность этой мутации при ВПХЦР ее выявление представляет клинический интерес, так как является перспективной мишенью для персонализированной таргетной терапии.

Летальный исход наступил у 2-х из 3-х пациенток через 24 мес. и 33 мес. Рецидив во всех случаях наступил в течение 12 месяцев после операции. Одна пациентка жива, и наблюдается до настоящего времени.

Приводим уникальное клиническое наблюдение излечения пациентки (одна из трех с данной мутацией) с ВПХЦР с мутацией гена *BRAF V600*, прооперированной в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского.

Пациентка 3., 38 лет, находилась на обследовании и лечении в НМИЦ хирургии им. Вишневского в ноябре-декабре 2015 г. При МСКТ (рисунок 52) была выявлена крупная опухоль, исходящая из 2–3 сегментов печени (8 см × 12 см × 9 см) с распространением на диафрагму и перикард (сT4NxM0).

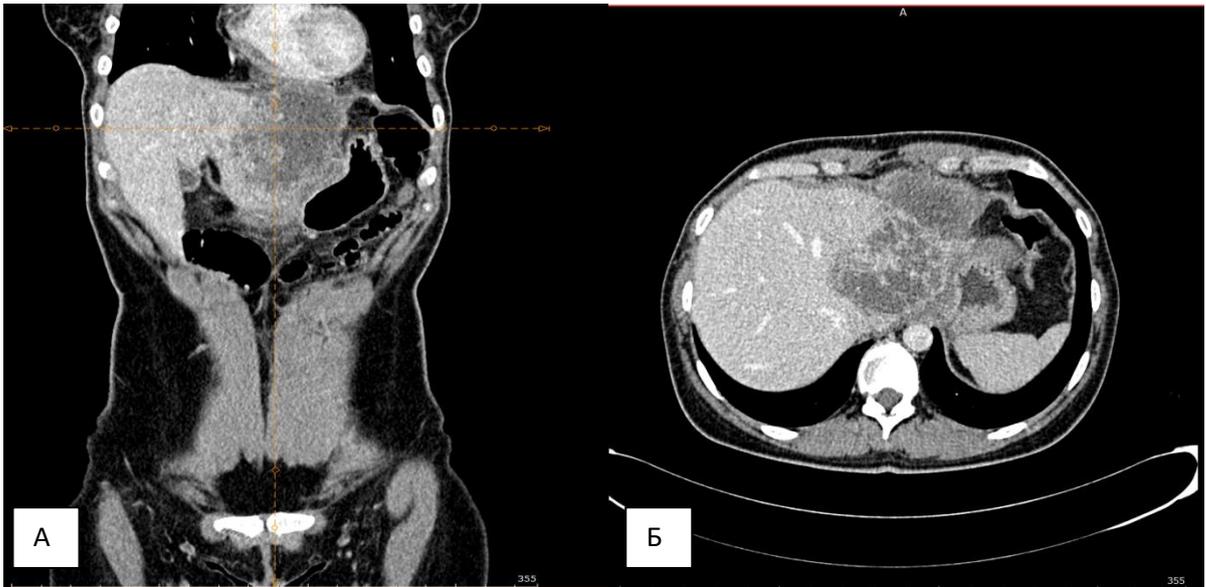


Рисунок 52— МСКТ до операции. Опухоль 2-3 сегментов печени с инвазией в диафрагму и перикард. А) коронарная проекция. Б) аксиальная проекция

В декабре 2015 года пациентке проведена операция – бисегментэктомия 2,3 с резекцией перикарда, лимфаденэктомия из гепатодуоденальной связки, холецистэктомия. Послеоперационный период протекал без осложнений, пациентка выписана через 2 недели после операции. Макропрепарат представлен на рисунке 53.



Рисунок 53 — Удаленный препарат: опухоль с частью перикарда (макропрепарат)

При гистологическом исследовании выявлена низкодифференцированная внутripеченочная холангиокарцинома левой доли печени (12 см × 7 см × 13 см) с периневральной и внутрисосудистой инвазией, вовлекающей капсулу печени и границу

резекции R1, проникающую в диафрагму и перикард (pT4 pN1 (3/6) cM0; M8160 / 3, R1; Pn1; L1, V1).

При иммуногистохимическом исследовании обнаружена экспрессия: Цитокератин 7, Ki67, Бета-катенин. Опухолевые клетки отрицательны на: Нер-Раг; Хромогранин А; Синаптофизин.

Через 2 месяца после операции на позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) был выявлен ранний рецидив опухоли. Пациентка прошла 2 курса химиотерапии (ХТ) по схеме гемцитабин+цисплатин в следующем режиме: 1-й день - гемцитабин 1400 мг внутривенно (в / в), 2-й день - оксалиплатин 200 мг внутривенно, 8-й день - гемцитабин 1400 мг внутривенно. Однако, после 2 курсов ХТ по данной схеме у больной отмечена прогрессия опухоли. Пациентке также было выполнено 2 курса иммунотерапии пембролизумабом, которая также эффекта не дала.

В апреле 2016 года, то есть через 5 месяцев после операции, у пациентки развилась механическая желтуха из-за компрессии общего желчного протока метастатическими лимфатическими узлами гепатодуоденальной связки. Для купирования желтухи выполнено эндоскопическое билиодуоденальное стентирование. В мае 2016 года были выявлены метастазы в забрюшинных лимфатических узлах, в легких, мягких тканях верхних и нижних конечностях, асцит.

На рисунке 54 представлена ПЭТ/КТ больной через шесть месяцев после операции, после 2 курсов химиотерапии и 2 курсов терапии пембролизумабом, где определяются множественные метастазы.

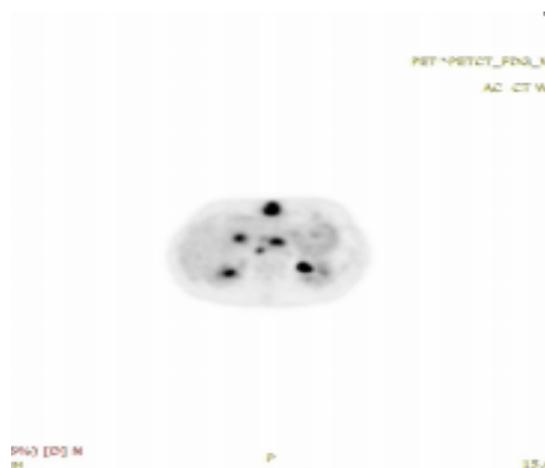


Рисунок 54 — ПЭТ. Прогрессирование заболевания на фоне химиотерапии

В дальнейшем проведено генетическое секвенирование нового поколения опухолевой ткани, которое выявило мутацию гена *BRAF V600E*. Принимая во внимание результаты генетического секвенирования и наличие специфических ингибиторов этого гена, была начата

таргетная терапия в режиме off-label дабрафенибом 300 мг в день в сочетании с траметинибом 2 мг в день.

Через 3 месяца после начала терапии по данной схеме был зафиксирован первый положительный эффект, а через 7 месяцев была достигнута ремиссия с полным регрессом опухоли. Пациентка находится под активным наблюдением, и согласно ее последнему ПЭТ-сканированию, проведенному в апреле 2021 года, признаков рецидива опухоли не выявлено (рисунок 55). Данное наблюдение представляет собой самую длительную ремиссию внутриспеченочной холангиокарциномы на фоне таргетной терапии дабрафенибом в сочетании траметинибом. Достигнутая ремиссия длится 56 месяцев.

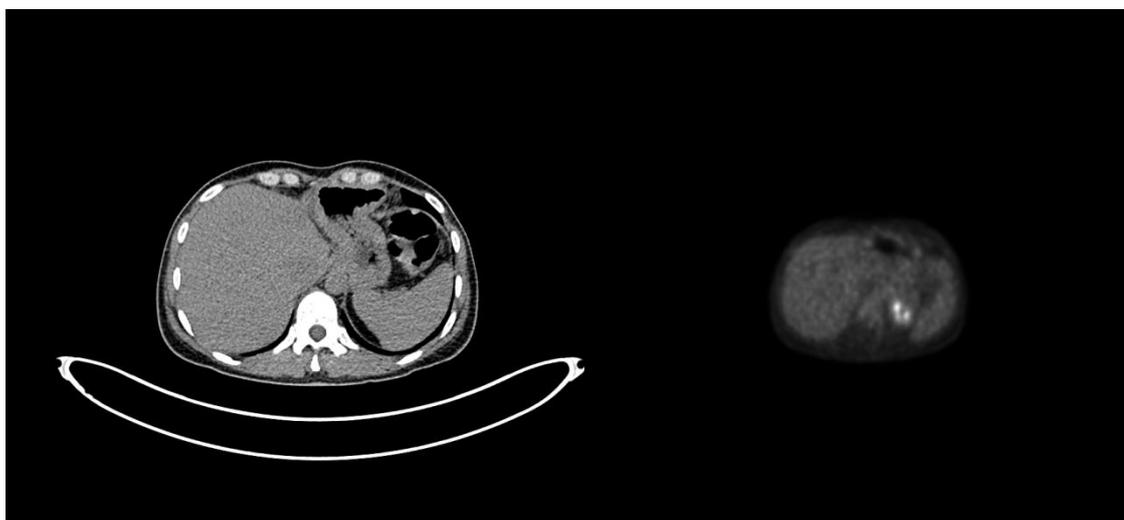


Рисунок 55 — ПЭТ/КТ через 59 месяцев после начала таргетной терапии. Нет данных о рецидиве опухоли

На примере клинического случая продемонстрирована реализуемость и высокая эффективность персонализированного молекулярно-направленного лечения, основанного на подавлении патологически активированных внутриклеточных киназ при внутриспеченочной холангиокарциноме с мутацией в гене *BRAF*.

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.

Прогноз ВПХЦР зависит от клинико-морфологических факторов, технических аспектов хирургического лечения и наличия молекулярно-генетических нарушений, лежащих в основе патогенезе данного заболевания. Проведение молекулярно-генетического профилирования опухоли позволяет спрогнозировать течение ВПХЦР после хирургического лечения, а также выявлению потенциальных кандидатов для молекулярно-ориентированной терапии. Так же, с другой стороны, сведения, полученные благодаря проводимым молекулярно-генетическим исследованиям, показали, что существуют различные генетические подтипы ВПХЦР, для которых характерны определенные молекулярные изменения, что требует индивидуального подхода к терапии.

### **5.3 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). В эту группу также включены пациенты, получившие неадекватную химиотерапию - 1 или 2 курса с последующей отменой по неизвестной причине.

Показатели общей выживаемости пациентов, получивших хирургическое и комбинированное лечение (резекция печени в сочетании с адъювантной химиотерапией) представлены на рисунке 56.

Как видно на рисунке 56 и таблице 19, пациенты, получавшие комбинированное лечение отличались лучшей общей выживаемостью. При этом полученные результаты были статистически достоверными ( $p=0,0001$ ).

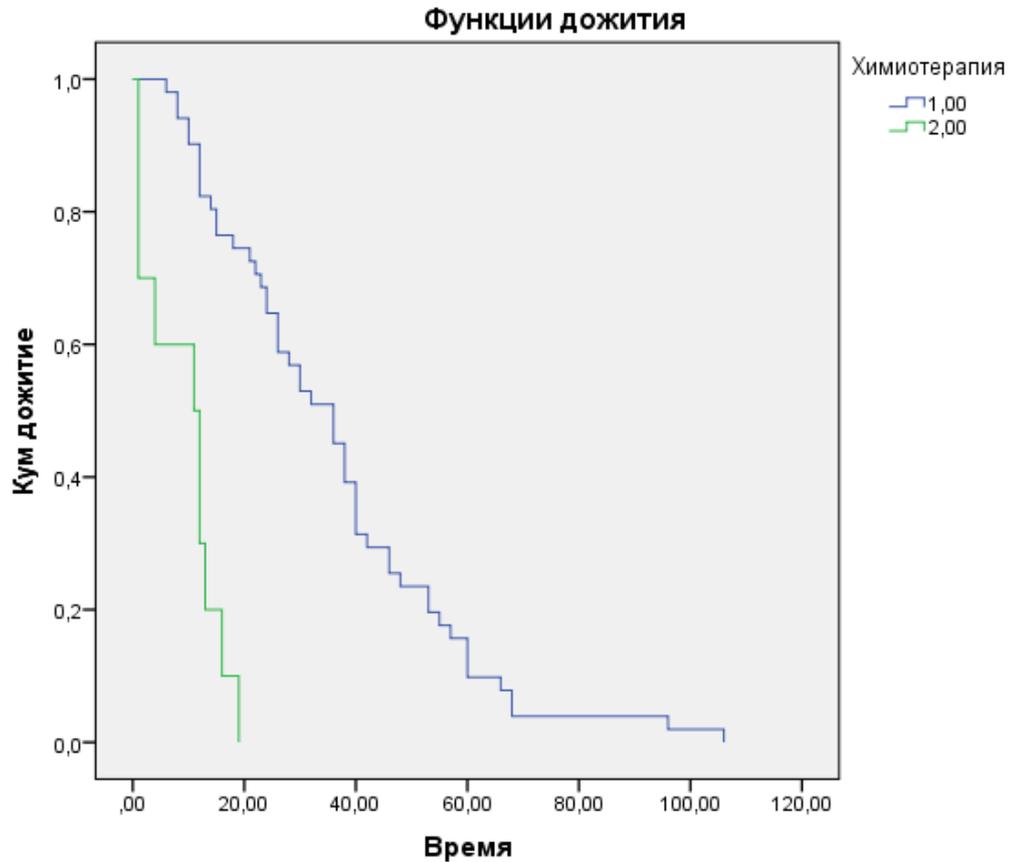


Рисунок 56 — График выживаемости Каплана-Меера для пациентов с ВПХЦР в зависимости от ПХТ

Таблица 19 — Статистический анализ выживаемости с Log-rank критерием для пациентов с ВПХЦР в зависимости от проведения ПХТ

Проверка равенства распределений дожития для двух групп			
	Хи-квадрат	Ст.Св.	Знач.
Log Rank (Mantel-Cox)	33,258	1	,000

Таким образом, проведение адъювантной химиотерапии достоверно улучшает общую выживаемость пациентов с внутриспеченочным холангиоцеллюлярным раком.

## 5.4 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 (рисунок 57).

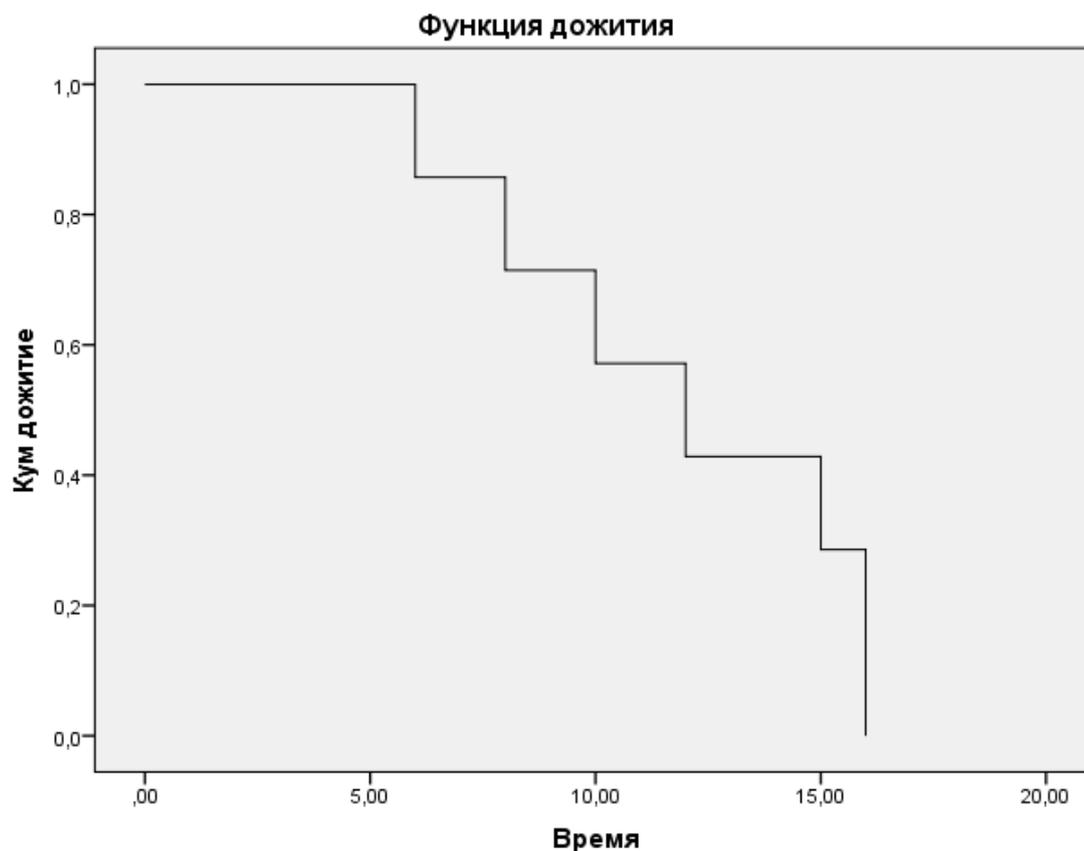


Рисунок 57 — График выживаемости пациентов с нерезектабельным ВПХЦР, получавших ПХТ

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

## 5.5 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, клинико-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 20. Они позволяют оценить прогноз выживаемости в отдаленном периоде после операции у пациентов с ВПХЦР.

Таблица 20 — 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
Периневральная 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%).

**Пример 1.** Больная П., 45 лет, диагноз: внутripеченочный холангиоцеллюлярный рак левой доли печени pT2N0M0, G2, R0, L0, Pn0, V0.

Проведена операция: левосторонняя гемигепатэктомия с резекцией 1 сегмента печени и внепеченочных желчных протоков. Исходные данные факторов риска представлены в таблице 21.

Таблица 21 — Исходные данные факторов риска для пациента П.

Прогностический фактор	Исходные факторы	Балльная оценка
Возраст	Менее 60 лет	0
Инвазия капсулы печени	Есть	2
Метастазы в регионарные лимфатические узлы	Нет	0
Радикальность операции	R0	0
Периневральная инвазия	Нет	0
Мутация гена <i>IDH1</i>	Нет	2
Мутация гена <i>MET</i>	Нет	0
Мутация гена <i>KRAS</i>	Да	0

Расчет прогноза:  $P = (0+2+0+0+0+2+0+0)/20 \times 100\% = 20\%$ , что соответствует варианту 1 (более 36 месяцев) для ожидаемой выживаемости

пациента. Общая выживаемость пациентки после оперативного лечения составила 108 месяцев. В настоящее время больная жива, убедительных данных за прогрессирование заболевания не выявлено.

**Пример 2.** Больная К., 50 лет, диагноз: внутripеченочный холангиоцеллюлярный рак правой доли печени pT3N1M0, G3, R0.

Проведена операция: лигирование правой воротной вены и рассечение печени *in situ* вдоль срединной портальной фиссуры, атипичная резекция 3 сегмента печени, правосторонняя гемигепатэктомия. В таблице 22 представлены исходные данные факторов риска и их балльные характеристики.

Таблица 22 — Исходные данные факторов риска для больной К.

Прогностический фактор	Исходные факторы	Балльная оценка
Возраст	Менее 60 лет	0
Инвазия капсулы печени	Есть	2
Метастазы в регионарные лимфатические узлы	Есть	4
Радикальность операции	R0	0
Периневральная инвазия	Нет	0
Мутация гена <i>IDH1</i>	Нет	2
Мутация гена <i>MET</i>	Нет	0
Мутация гена <i>KRAS</i>	Да	0

Расчет прогноза:  $P = (0+2+4+0+0+2+0)/20 \times 100\% = 40\%$ , что соответствует варианту 2 (от 18 до 36 месяцев) для ожидаемой выживаемости пациента. Пациентка умерла через 36 месяцев после проведенного оперативного вмешательства в связи с прогрессированием заболевания.

**Пример 3.** Больной Х., 62 лет, диагноз: внутripеченочный холангиоцеллюлярный рак левой доли печени, pT4N1M0, G3, R2, L1, Pn1, V1.

Проведена операция: левосторонняя гемигепатэктомия с резекцией внепеченочных желчных протоков. Исходные данные факторов риска представлены в таблице 23.

Таблица 23 — Исходные данные факторов риска для пациентки Х

Прогностический фактор	Исходные факторы	Балльная оценка
------------------------	------------------	-----------------

Возраст	61 год и более	2
Инвазия капсулы печени	Есть	2
Метастазы в регионарные лимфатические узлы	Есть	4
Радикальность операции	R2	4
Периневральная инвазия	Есть	2
Мутация гена <i>IDH1</i>	Есть	0
Мутация гена <i>MET</i>	Есть	2
Мутация гена <i>KRAS</i>	Нет	2

Расчет прогноза:  $P = (2+2+4+4+2+0+2+2)/20 \times 100\% = 90\%$ , что соответствует варианту 3 (менее 18 месяцев) для ожидаемой выживаемости пациента. Больной умер через 12 месяцев после проведенного хирургического лечения в связи с прогрессированием заболевания.

Практическое применение данного способа является важным для выбора оптимального варианта лечения больных ВПХЦР в послеоперационном периоде. На основании разработанной прогностической шкалы получен патент на изобретение (№2773252).

## ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ВЛИЯНИЯ КЛИНИКО- МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОГНОЗ

В настоящее время единственным эффективным методом лечения ВПХЦР остается резекция печени, позволяющая добиться увеличения продолжительности жизни [55, 72, 266, 281]. Однако, отсутствие специфических патогномичных признаков, длительное бессимптомное течение заболевания приводят к тому, что больные внутрипеченочной 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. 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 [201]. В таблице (приложение 5) представлены данные 5-летней выживаемости по данным разных авторов [72] в сравнении с нашими результатами. Согласно нашим результатам общая 1-одногодичная общая выживаемость составила 79,8 (60,9–90,9%), 3-летняя – 56,5 (35,5–79,6%), 5-летняя — 39 (8,2–63,7%), что аналогично данным зарубежной литературы.

Также возможности адьювантной терапии ограничены применением фторпиримидинов, или при R1 резекции, которая часто встречается при хирургическом лечении ВПХЦР, проведением режимов терапии, по сути, первой линии. 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, определяющие агрессивное течение ВПХЦР. Наиболее изученные клиничко-морфологические факторы, такие как размеры опухоли, степень дифференцировки опухоли, радикальность операции, стадия опухолевого процесса, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, микро- и макрососудистая инвазия в полной мере не позволяют прогнозировать течение опухолевого процесса. 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.

За последние 5 лет стал развиваться персонализированный подход в терапии ХЦР, определяемый относительной эффективностью применения таргетного воздействия при наличии определенных генетических альтераций, в частности – ингибиторов IDH1, ингибиторов BRAF и MEK, ингибиторов FGFR, ERBB2. Однако распространение данных альтераций в Российской популяции к настоящему времени не изучено.

Данное исследование предпринято с целью улучшения результатов хирургического лечения пациентов с ВПХЦР в российской популяции путем изучения и выявления клиничко-морфологических и молекулярно-генетических факторов, влияющих на прогноз и персонализированного подхода к лечению каждого пациента. На первом этапе были проанализированы клиничко-

морфологические факторы, влияющие на результаты хирургического лечения, на втором – генетические альтерации, участвующие в патогенезе опухолевого процесса и их влияние на прогноз.

Для этого проанализированы отдаленные исходы комбинированной терапии (хирургическое и противоопухолевое лекарственное) ВПХЦР в зависимости от различных прогностических факторов, а именно, пола, возраста, инвазии в капсулу печени, периневральной, сосудистой инвазии, наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах, степени дифференцировки опухоли, размера опухоли, состояния края резекции, стадии процесса, показателя онкомаркера СА 19-9, объема резекции печени и кровопотери, проведения химиотерапии, наличия мутаций генов *IDH1/2*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MET*, *TP53*, *ERBB2*, *PIK3CA*.

Клинико-морфологические факторы, оцененные в работе, определяют прогноз и степень распространенности опухолевого процесса согласно текущей 8 классификации Международного противоракового союза (UICC, 2017).

По результатам проведенного однофакторного анализа клинико-морфологическими и молекулярно-генетическими факторами, влияющим на отдаленный прогноз являются пол, возраст, инвазия опухоли в капсулу печени, периневральная и микрососудистая инвазия, степень дифференцировки опухоли, наличие метастазов в л/у, состояние края резекции (статус R), стадия процесса, проведение адъювантной химиотерапии, наличие мутации в генах генов *IDH1/2*, *KRAS*, *MET*. В то же время, при проведении многофакторного анализа критериями, достоверно влияющими на прогноз, оказались состояние края резекции, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, инвазия в капсулу опухоли, проведение химиотерапии, периневральная инвазия, наличие мутаций в генах *IDH1/2*, *MET*. Для таких критериев как размер, степень дифференцировки опухоли, наличие сосудистой инвазии и стадии опухолевого процесса не получено достоверно значимого влияния на прогноз после хирургического лечения.

## 6.1 Влияние клинико-морфологических факторов на прогноз

По данным системы классификации Американского объединенного комитета по изучению рака (AJCC) размер опухоли при ВПХЦР является прогностическим фактором [47]. Аналогичного мнения придерживаются и другие авторы. Так, по результатам мета-анализа Vagante F. и соавт. размер опухоли наряду с другими прогностическими факторами был достоверно значимым фактором в отношении выживаемости [30]. По данным Doussot A. и соавт. (2016) размер опухоли  $> 5$  см ассоциирован с худшим прогнозом выживаемости [79]. Однако в других работах этот критерий оказался фактором, не оказывающим влияния на исход [124]. По нашим данным статистически достоверных различий выживаемости пациентов с размером опухоли  $>5$  см и  $< 5$  см выявлено не было.

Другим изучаемым параметром, ассоциированным с исходом лечения, является микрососудистая инвазия. В последней 8-ой редакции TNM инвазию сосудов представлена в качестве значимого параметра стадирования ВПХЦР, без уточнения микро- или макрососудистого характера поражения [24]. Работ, исследующих влияние микрососудистой инвазии на выживаемость в отдалённом периоде мало, и они противоречивы. По данным Rodríguez-Perálvarez M. опухолевые эмболы в кровеносных сосудах мелкого калибра приводят к внутрипеченочному рецидиву или системному метастазированию [225].

Согласно данным разных авторов, микрососудистая инвазия является негативным прогностическим фактором в отношении исходов после резекции печени у пациентов с ВПХЦР [28, 235]. В другом исследовании, показано, что микрососудистая инвазия при ВПХЦР достоверно ассоциирована с частотой рецидива заболевания, но не было получено данных об отрицательном влиянии на отдалённую выживаемость [116]. Нами не было получено достоверной разницы в общей выживаемости групп пациентов с наличием или отсутствием микрососудистой инвазии как по данным однофакторного, так и многофакторного анализа.

Периневральная инвазия (ПНИ) является одним из широко известных факторов риска при различных новообразованиях [58].

В нашем исследовании многофакторный анализ показал влияние ПНИ на выживаемость в отдалённом периоде.

Роль ПНИ как фактора риска низкой выживаемости в отдаленном периоде показана для внепеченочной холангиокарциномы [310]. В исследовании Zhang Z. при анализе результатов лечения 134 пациентов после R0-резекции, периневральная инвазия оказалась фактором, ассоциированным с плохим прогнозом в отношении общей выживаемости и безрецидивной выживаемости [307].

В многоцентровом исследовании 2022 года среди 1095 пациентов, перенесших резекцию, ПНИ присутствовала у 239 человек (21,8%)[288]. Многофакторный анализ показал, что ПНИ ассоциирована с худшей безрецидивной выживаемостью и худшей общей выживаемостью.

Исследования, включающие в анализ инвазию капсулы печени, единичны. В исследовании F. Bartsch показано, что инвазия капсулы печени ассоциирована с худшим прогнозом общей выживаемости, но не повлияла на безрецидивную выживаемость. По мнению автора, перфорация капсулы печени опухолью или ее перидуктальный тип свидетельствуют об агрессивном диссеминационном потенциале новообразования[33]. По нашим данным также инвазия капсулы достоверно значимо ассоциирована с худшей выживаемостью по результатам многофакторного анализа.

В исследовании Мао Z. было показано, что степень дифференцировки опухоли связана с прогнозом. Низкодифференцированные опухоли ассоциированы с неблагоприятным отдаленным исходом в отношении выживаемости [180]. В нашей работе не было получено влияния степени дифференцировки на выживаемость.

По данным Мао Z. стадия опухоли ассоциирована с исходом согласно результатам исследования исходов у 293 пациентов после резекции печени при холангиокарциноме [180]. Также в нашем исследовании стадия опухоли была

достоверно значима в отношении прогноза по данным однофакторного анализа. Однако согласно многофакторному анализу стадия процесса не влияла на выживаемость.

Поздняя диагностика рака билиарного тракта, сложность анатомической зоны для выполнения R0 резекций, распространенность метастазов приводят к неудовлетворительным результатам выживаемости в отдаленном периоде у пациентов. Поэтому остаются актуальными вопросы адьювантной терапии после хирургического удаления первичной опухоли и региональных метастазов. Результаты исследований, посвященных этой теме, остаются противоречивыми.

В исследовании PRODIGE 12 у больных с раком желчных путей после хирургического лечения применялась адьювантная химиотерапия с назначением комбинации GEMOX (гемцитабин 1000 мг/м<sup>2</sup> 1 день и оксалиплатин 85 мг/м<sup>2</sup> 2 день каждые 2 недели 12 циклов) [81]. Подгрупповой анализ не показал выигрыша ни для одной подгруппы. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии выигрыша от назначения адьювантной химиотерапии GEMOX, особенно у больных раком желчного пузыря.

Исследование BILCAP у больных с опухолями билиарной системы после перенесенного радикального хирургического лечения, напротив показали достоверное снижение риска смерти в группе химиотерапии. Подгрупповой анализ показал увеличение общей выживаемости во всех подгруппах, кроме опухолей внепеченочных желчных протоков [216].

По результатам, полученным нами, адьювантная химиотерапия ассоциирована с лучшими результатами в отношении общей выживаемости.

Одним из наиболее обсуждаемых вопросов в литературе при хирургическом лечении ВПХЦР, который также изучался нами, является влияние наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах. Наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах рассматривается как один из наиболее важных факторов риска плохого исхода после хирургического лечения. Даже при достижении «чистого» края резекции (R0) при наличии метастазов в лимфатических узлах, прогноз является неблагоприятным [197].

При многофакторном анализе нами были получены статистически достоверные данные о влиянии метастазов в регионарных лимфатических узлах на выживаемость. На сегодняшний день сохраняются различные точки зрения об объёме и необходимости проведения лимфаденэктомии. Согласно некоторым исследованиям, удаление лимфоузлов способствует снижению риска локорегионарного рецидива, однако, проспективные исследования не показали преимуществ в выживаемости, связанного с лимфаденэктомией [236]. С другой стороны, лимфаденэктомия имеет прогностическую ценность и повышает точность стадирования ВПХЦР, в связи с чем, рекомендуется ее выполнение при оперативном лечении [142].

Одним из наиболее важных факторов, определяющим прогноз и влияющим на выживаемость пациентов, по данным разных авторов, является достижение «чистого» (R0) края резекции (удаление опухоли в пределах здоровых тканей). Согласно крупному многоцентровому исследованию, проведенному в 2012 году, резекция печени R0 в значительной степени ассоциирована с улучшением выживаемости после операции. Расстояние до края резекции не является значимым прогностическим фактором [221]. По данным другого многоцентрового исследования резекция R1 является предиктором плохого прогноза выживаемости [253]. Согласно данным, полученным разными группами исследователей, отмечается увеличение 5-летней общей выживаемости пациентов с резекцией R0, однако обязательным условием должно быть сохранение достаточного объема паренхимы печени [221].

При сравнении групп пациентов с резекцией печени R0, R1, R2 были получены достоверно значимые различия в отношении общей выживаемости с применением статистического анализа по Log Rank ( $p < 0,05$ ). Ни один из пациентов после резекции R2 не прожил более 12 месяцев, 5-летняя выживаемость у пациентов с R1 составила 30%, в группе R0 наступил 1 летальный исход за период наблюдения, однако стоит отметить, что в этой группе большое количество цензурированных случаев, наблюдение которых еще продолжается.

При изучении демографических показателей обращает на себя внимание, что 60 % анализированных нами пациентов российской популяции являются представителями женского пола, что не согласуется с литературными данными. По данным литературы, заболеваемость ВПХЦР выше у мужчин.

Одним из наиболее дискуссионных вопросов при лечении ВПХЦР, который также изучен нами, является влияние объема хирургического вмешательства на непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения. По данным разных авторов, при внутripеченочной холангиокарциноме среди резектабельных случаев примерно 75% нуждается в гемигепатэктомии или расширенной гемигепатэктомии [55, 72, 266, 281].

С одной стороны, соблюдение принципов абластики при хирургическом лечении злокачественной опухоли обязывает к выполнению анатомической резекции печени, т.е. к удалению паренхимы печени, в которую впадает соответствующая сосудисто-секреторная ножка, окружающая первичную опухоль, в которой могут располагаться невизуализируемые при инструментальной диагностике внутripеченочные отсевы. С другой стороны, выполнение «истинно» анатомических резекций печени (с предварительной перевязкой сосудисто-секреторной ножки) по линии демаркации сопровождается удалением значительного объема паренхимы печени, что уменьшает возможность повторной операции при возникновении рецидива опухоли. В то же время «большие» резекции печени сопряжены со стимуляцией факторов роста и выработки цитокинов для гипертрофии остающейся части печени, как регенераторная реакция организма, что в свою очередь может стимулировать рост внутripеченочных и внепеченочных микрометастазов [193]. Кроме того, выполнение больших резекций печени чаще ассоциировано с возникновением различных пострезекционных осложнений, в том числе послеоперационной печеночной недостаточностью, что увеличивает время восстановления больного и пролонгирует время назначения адъювантной химиотерапии. Это особенно актуально при возникновении ВПХЦР при наличии фоновой патологии, что сопровождается снижением функциональных резервов печени (цирроз печени,

активный гепатит, состояние после медикаментозных воздействий, неалкогольная жировая болезнь печени, пожилой возраст больного).

В связи с этим был проведен сравнительный анализ двух групп пациентов в зависимости от объема удаляемой паренхимы печени. Первую группу составили больные, которым выполнены «истинно» анатомические резекции печени (гемигепатэктомия и расширенная гемигепатэктомия), вторую – сегменториентированные резекции печени с применением ультразвук-направленного подхода (резекции двух и трех сегментов печени). Пациентам обеих групп выполнялась лимфаденэктомия в объеме D2. При проведении сравнительного анализа выживаемости между двумя этими группами оказалось, что объем удаляемой паренхимы печени не оказывает влияния общую и безрецидивную выживаемость. С другой стороны, при оценке непосредственных результатов послеоперационные осложнения достоверно чаще встречались в группе «истинно» анатомических (больших) резекций печени.

Основопологающим фактором при выборе варианта резекции печени явилось вовлечение в опухолевый процесс ветвей воротной вены и печеночных вен с учетом классификации резекций печени, основанной на Брисбейнской терминологии 2000 года. При локализации опухоли в одном из сегментов правой доли печени (5,6,7,8) с вовлечением в опухолевый процесс правой ветви воротной вены и/или ствола правой печеночной вены независимо от размера опухоли показано выполнение правосторонней гемигепатэктомии с резекцией или без внепеченочных желчных протоков и первого сегмента. В отношении последнего, если нет признаков распространения опухоли на 1 сегмент его удаление с целью «повышения» радикальности не обоснованно. При вовлечении в опухолевый процесс изолировано правой передней и правой задней секторальных ветвей воротной вены показано выполнение бисегментэктомии S5-8 (правосторонняя передняя секционэктомия) и бисегментэктомии S6-7 (правосторонняя задняя секционэктомия) соответственно с применением ультразвук-направленного подхода. При отсутствии вовлеченности правых секторальных ветвей воротной

вены, как правило, при краевых локализациях опухоли возможно выполнение бисегментэктомии S4-5, S5-6.

Важным является то обстоятельство, что при локализации опухоли в правой доле печени регионарными являются лимфатические узлы гепатодуоденальной связки и общей печеночной артерии. Исходя из этого, независимо от объема и варианта резекции печени при ВПХЦР должны быть удалены лимфатические узлы № 8 и 12. При этом, для адекватного стадирования опухоли, гистологическому исследованию должны подвергаться не менее 6 лимфатических узлов.

При локализации опухоли во 2,3,4 сегментах печени показано выполнение левосторонней гемигепатэктомии с резекцией или без 1 сегмента и внепеченочных желчных протоков (зависимости от вовлечения в опухолевый процесс внепеченочных желчных протоков). При распространении опухолевого процесса в прилежащие сегменты правой доли печени показано выполнение расширенной левосторонней гемигепатэктомии (с резекцией 5 и/или 8 сегмента печени). Изолированная анатомическая резекция 4 сегмента печени при ВПХЦР, как правило, не выполняется. Данное вмешательство в изолированном варианте при ВПХЦР нами не проводилось, что было обусловлено отсутствием технических условий в связи распространением опухоли в прилежащие сегменты и магистральные сосуды. При изолированном поражении 2,3 сегментов печени и отсутствия вовлечения ствола левой печеночной вены и/или конfluenceа левой и средней печеночной вен допустимо выполнение бисегментэктомии S2-3 (левосторонняя латеральная секционэктомия).

Независимо от объема и варианта резекции печени показано удаление регионарных лимфатических сосудов (лимфаденэктомия в объеме D2). При левосторонней локализации опухоли регионарными являются лимфатические узлы ГДС, общей печеночной артерии, малого сальника (в области малой кривизны желудка) и поддиафрагмальные (правые паракардиальные) лимфоузлы (№1,3,8,12).

Таким образом, выполнению лимфаденэктомии при ВПХЦР должно уделяться особое внимание, так как кроме адекватного стадирования онкопроцесса удаление регионарных лимфатических узлов позволяет увеличить общую и безрецидивную выживаемость после хирургического лечения. По результатам нашего исследования при выполнении мультифакторного анализа наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах является независимым, статистически достоверным ( $P \leq 0,05$ ), фактором неблагоприятного прогноза.

Критериями нерезектабельности ВПХЦР независимо от локализации и размера опухоли являются 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.

Трудной задачей остается лечение больных ВПХЦР, когда невозможно выполнить по разным причинам радикальное вмешательство, в частности, малом объеме ремнаната, наличии тяжелых сопутствующих заболеваний, а также местного распространения опухоли. У этой категории больных опциями являются применение технологии ALPPS, а также локорегионарное воздействие на опухоль.

Эффективность хирургического лечения ВПХЦР с применением технологии ALPPS недостаточно изучена [151]. При выполнении ALPPS гипертрофия планируемого остатка печени происходит в течение 5-10 дней [231]. Однако, классическая технология ALPPS сопряжена с большим числом осложнений [14]. На 1-й Международной согласительной конференции по ALPPS (Гамбург, 2015 г.) говорилось о необходимости оптимизации ALPPS с целью уменьшения частоты послеоперационных осложнений и летальности, в частности, за счет снижения травматичности первого этапа.

Таким образом, осуществляется поиск методик ALPPS, позволяющих достичь достаточного объема планируемого остатка печени за более короткий срок со снижением частоты осложнений и летальных исходов.

Так Gall T.M. и соавт. в 2015 было предложено лапароскопически лигировать правую воротную вену и выполнять радиочастотную абляцию (РЧА) паренхимы печени вдоль плоскости предстоящей резекции без разделения паренхимы – RALPPS (radiofrequency-assisted ALPPS) [92].

Таким образом, в подобных ситуациях альтернативным вариантом хирургического разделения паренхимы печени является выполнение РЧА паренхимы печени в плоскости предполагаемой резекции печени с перевязкой или эмболизацией правой ветви воротной вены на первом этапе (RALPPS). Этот подход технически проще, а также снижает риск осложнений и легче переносится больными с потенциально резектабельным ВПХЦР с малым объёмом планируемого остатка печени. Такой подход применен нами при хирургическом лечении двух пациентов с хорошими непосредственными и отдаленными результатами, что подчеркивает реализуемость выполнения технологии ALPPS при хирургическом лечении ВПХЦР. Однако с учетом малой выборки пациентов оценка эффективности данного метода в отношении отдаленных результатов хирургического лечения ВПХЦР требует дальнейшего изучения по мере увеличения выборки больных.

Также сложной задачей является лечение больных ВПХЦР с тяжелым коморбидным состоянием, которое также в литературе описано скудно. У соматически отягощенных пациентов с размером опухоли не более 3 см альтернативной опцией лечения является чрескожная или открытая радиочастотная термоабляция опухоли. Пациент, которому выполнена чрескожная РЧА ВПХЦР на фоне цирроза печени прожил 4 года. При этом пациент не получал системную химиотерапию. Продолжительность жизни другого пациента, которому выполнена ТАХЭ артериальных ветвей к опухоли составила 26 месяцев. С учетом небольшого объема выборки аспект локорегионарной терапии ВПХЦР требует дальнейшего изучения.

## 6.2 Влияние молекулярно-генетических факторов на прогноз

Следующим этапом нашего исследования явилось изучение спектра и частоты мутаций наиболее изученных при других заболеваниях мутаций, а именно мутаций генов *IDH1/2*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MET*, *TP53*, *ERBB2*, *PIK3CA* при ВПХЦР в российской популяции, а также их роли как фактора прогноза выживаемости. Частота мутаций изученных генов при ВПХЦР в российской популяции была представлена следующим образом: мутация генов *IDH1/2* (25%), мутация гена *KRAS* (27%), мутация гена *NRAS* (10%), мутация гена *PIK3CA* (10%), мутация гена *BRAF* (7%), мутация (делеция) гена *MET* (12%), мутация (амплификация) гена *ERBB2* (7%), *EGFR* - 2%. На основании мутационного статуса на данном этапе можно предположить, что ВПХЦР отличается выраженной гетерогенностью мутационного статуса. В дальнейшем было изучено влияние наиболее часто встречающихся мутаций на отдаленные результаты хирургического лечения, проведен сравнительный анализ данных современных зарубежных исследований и полученных нами результатов. Оценен прогноз пациентов с ВПХЦР после хирургического лечения с теми или иными мутациями.

Согласно проведенному молекулярно-генетическому исследованию, в российской популяции одной из наиболее часто встречающихся мутаций при ВПХЦР является мутация в генах *IDH1/2* (25%). Высокая частота мутаций этих генов у пациентов с внутривенной холангиокарциномой согласуется с результатами других авторов [104].

Ген *IDH* кодирует синтез фермента IDH, который участвует в цикле Кребса, катализирует превращение изоцитрата в  $\alpha$ -кетоглутарат. Мутации IDH усиливают образование 2-гидроксиглутарата (2-HG) из  $\alpha$ -кетоглутарата, что ассоциировано с более высоким метилированием ДНК и, в свою очередь, способствует клеточной пролиферации, инвазии и неоангиогенезу [8].

По данным литературы при ВПХЦР частота выявления мутации в генах *IDH1* и *IDH2* ниже, чем при глиобlastомах. По данным разных авторов при

ВПХЦР частота встречаемости мутации генов *IDH1* и *IDH2* составляет 8-30% [163].

По данным Boscoe A. N. и соавт. при холангиокарциноме чаще встречается *IDH2*-мутация, чем *IDH1* [42]. В отличие от этого у наших пациентов мутация гена *IDH1* наблюдалась чаще (60%), чем *IDH2*-мутация (40%). При этом в 5 случаях мутация *IDH1/2* была в виде одиночной мутации, в остальных случаях она сочеталась с мутациями других генов: в двух случаях с мутацией гена *MET*, в остальных случаях с мутацией генов *KRAS* и *BRAF*. Объяснением этому может служить то, что в различных этнических популяциях распространенность мутации ВПХЦР не одинакова, а также отличия в патогенезе заболевания в азиатских, европейских и американских когортах. В исследовании Jusakul A. после проведения NGS было выделено 4 кластера внутривисцеральной холангиокарциномы, где распространённость мутаций зависела от патогенеза заболевания [134].

Влияние мутации генов *IDH1* и *IDH2* на прогноз пациентов при холангиокарциноме изучено мало. В отечественной литературе нет данных о распространенности и прогностической значимости мутаций этих генов на течение заболевания.

В нескольких исследованиях, изучавших прогностическую значимость мутации генов *IDH1/2* при ВПХЦР, сообщалось о том, что статистически значимой связи между клиническими исходами и наличием мутации в этих генах нет (общая выживаемость, безрецидивная выживаемость) [66, 131, 159, 162, 226, 265, 278, 291].

Несмотря на то, что выборки пациентов в этих исследованиях были небольшими, их результаты свидетельствуют о том, что наличие мутации в генах *IDH1/2* не оказывает негативного влияния на течение ВПХЦР. Стоит отметить, что, учитывая различия в ведущих этиологических факторах развития ВПХЦР, которые упоминались выше, возможно и исходы в различных популяционных исследованиях могут отличаться в зависимости от этиологии заболевания.

Результаты нашего исследования также свидетельствуют об отсутствии негативного влияния мутации в генах *IDH1/2* на общую и безрецидивную выживаемость.

Общая 3-летняя выживаемость для наших пациентов с мутацией *IDH1/2* составила 84%, что аналогично данным Ма В. и соавт. [178]. Однофакторный и многофакторный анализы показали, что случаи с мутацией *IDH1/2* значительно улучшили прогноз по сравнению со случаями дикого типа *IDH1/2* с точки зрения безрецидивной ( $P = 0,006$ ) и общей выживаемости ( $P = 0,031$ ) в общей когорте пациентов ВПХЦР. Многофакторный анализ других данных также подтвердил, что мутация *IDH1/2* была благоприятным независимым предиктором безрецидивной выживаемости [134].

При проведении анализа кумулятивной общей и безрецидивной выживаемости после хирургического лечения группа наших пациентов с мутацией генов *IDH1/2* также имела лучшие показатели по сравнению с пациентами с другими исследуемыми мутациями. Достоверно выше была общая выживаемость в группе пациентов с мутированным *IDH1/2* по сравнению с диким типом *IDH1/2*. Кроме того, нами также не было получено достоверных различий в группах с мутантным и диким типом генов *IDH1/2* в отношении таких клинико-демографических показателей как пол, возраст, сосудистая инвазия, стадия заболевания, степень дифференцировки опухоли, радикальность операции, размер опухоли, метастазы в лимфатические узлы. Возможно, это косвенно объясняет отсутствие негативного влияния на прогноз. Однако в отношении инвазии капсулы были получены достоверные различия. Это возможно связано с первичной локализацией опухоли и гиперэкспрессией HIF-1- ключевой молекулы гипоксия-индуцированных сигнальных путей в клетке [176].

Таким образом, полученные результаты на данном этапе позволяют сделать вывод, что мутация генов *IDH1/2*, хотя и является одним из ключевых участников канцерогенеза, является предиктором благоприятного прогноза, что необходимо учитывать при выборе объема хирургического вмешательства и подборе

лекарственной терапии. Кроме того, в настоящее время одобрено применение таргетного препарата, являющегося ингибитором мутантного белка IDH1.

К другим наиболее часто встречающимися генетическими альтерациям при ВПХЦР оказались мутации в семействе генов *RAS*, в частности генов *KRAS* и *NRAS*. Частота мутаций этих генов у наших пациентов составила 27% и 10% соответственно, что также аналогично данным других авторов [42, 66]. Мутации были преимущественно в 12 (78%), 13(33%), 61(55%), 117(44%), 146(44%) кодонах 2,3,4 экзонов. С другой стороны в нескольких зарубежных исследованиях было показано, что наличие мутации гена *KRAS* оказывает негативное влияние на прогноз в ВПХЦР [224, 285], что расходится с нашими данными о нейтральном значении этой мутации. По результатам ряда исследований мутация гена *KRAS* является неблагоприятным фактором риска ВПХЦР при проведении однофакторного анализа. Однако многофакторный анализ это не подтвердил в данных исследованиях [100]. Многофакторный анализ в одном из исследований, проведенных в Китае (2022 г), показал, что варианты *KRAS* G12, но не варианты, отличные от G12, были достоверно ассоциированы с худшей общей выживаемостью [309]. В нашем исследовании мутация *KRAS* встречалась 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. При оценке кумулятивной выживаемости методом Каплан-Мейера с определением теста Кокса-Ментела, который более информативен при выборках малого размера достоверная разница в выживаемости между группами пациентов с диким и мутированным типом генов *KRAS* и *NRAS* не наблюдалась. Хотя и мутации этих генов, как правило, являются неблагоприятными прогностическими факторами (в отношении других опухолей), в нашем исследовании они ассоциировались с нейтральным влиянием на исход, даже некоторые пациенты, являющиеся «долгожителями», имели мутации этих генов. Возможным объяснением может быть наличие сочетанных мутаций в когорте сравнения, повлиявших на прогноз и, как описано выше, важен вариант мутации. В нашем исследовании были получены сочетанные мутации гена *KRAS* в половине случаев

с генами *PIK3CA*, *IDH1/IDH2*, и ни одного случая сочетанной мутации с геном *MET*. Так в исследовании D. Walter и соавт. (2017) показана лучшая выживаемость пациентов с внутривенным холангиоцеллюлярным раком на фоне мутации *IDH1/2*. Также медиана общей выживаемости пациентов с мутантным геном *KRAS* составила 28,2 месяца по сравнению с 11,6 месяцами для дикого типа *KRAS* ( $p=0,025$ ) [280]. Sh-Ch. Wang и соавт. показано, что ген *MET* ассоциирован с худшими исходами в отношении общей выживаемости и рецидива [284].

Кроме того, отсутствие негативного влияния на общую выживаемость и рецидив, возможно, обусловлено длительным течением злокачественного процесса при ВПХЦР, в течение которого, на фоне мутации гена, происходит снижение степени дифференцировки исходно высокодифференцированной опухоли с относительно более благоприятным течением. Подобное объяснение предложено в исследовании пациентов с колоректальным раком, где лучшие результаты выживаемости были у пациентов с выявленной *KRAS*-мутацией, которую принято считать неблагоприятным фактором в отношении исходов у пациентов с колоректальным раком [10].

При оценке взаимосвязи гена *KRAS* и клинико-демографических показателей, мы выявили взаимосвязь пола с частотой выявления мутации гена *KRAS* при ВПХЦР. В нашем исследовании мутантный ген выявлялся исключительно у женщин.

Мутационный статус гена *KRAS* может быть использован как прогностический и особенно как предиктивный маркер эффективности лечения и ассоциирован с возможной устойчивостью к ингибиторам рецепторных тирозинкиназ [74]. С другой стороны, мутантный ген *KRAS* с различными нуклеотидными заменами активирует сигнальные пути, в частности сигнальный путь MEK [126], что может быть связано с чувствительностью опухолевых клеток при ВПХЦР к ингибиторам MEK.

В настоящее время не утверждены таргетные препараты, направленные на *KRAS*-мутацию, хотя статус гена *KRAS* имеет решающее значение при назначении

анти-EGFR терапии, поскольку обычно такая мутация придает устойчивость к этим препаратам, в частности, при колоректальном раке [107]. При ВПХЦР связь между состоянием гена *KRAS* и эффективностью препаратов против EGFR-антител остается неопределенной [86, 217]. С учетом высокой частоты *KRAS*-мутации при ВПХЦР представляется целесообразным проведение научных исследований для оценки эффективности таргетных препаратов MEK в сочетании с другими препаратами в российской популяции. В частности, сообщалось о стабилизации ВПХЦР после предшествующего прогрессирования терапией ингибиторами MEK [105]. Этот аспект требует дальнейшего изучения.

При изучении влияния других мутаций на результаты общей и безрецидивной выживаемости наиболее неблагоприятные результаты для больных с мутацией гена *MET*. Мутация гена *MET* у наших пациентов встречалась с частотой 12%, что коррелирует с данными зарубежных авторов [203]. По нашим данным 3-х летняя общая и безрецидивная выживаемость пациентов с мутацией гена *MET* после хирургического лечения не достигнута. При выполнении сравнительного анализа выживаемости пациентов с диким и мутированным типом гена *MET*, а также мутации гена *MET* с другими выявленными мутациями, а также методом Каплан-Мейера с обязательным определением теста Кокса-Ментела, который более информативен при выборках малого объема, показал достоверную статистическую значимость  $p=0,0055$  ( $p<0,05$ ). Таким образом, на основании полученных результатов на данном этапе можно предположить, что мутация гена *MET* приводит к повышению инвазивного потенциала опухоли и является предиктором неблагоприятного прогноза после хирургического лечения. Гиперэкспрессия с-Met ассоциирована с гиперэкспрессией EGFR и с более тяжелой стадией заболевания по данным M. Miyamoto [188].

Это обстоятельство необходимо учитывать при оценке результатов хирургического лечения и послеоперационном ведении пациентов, в частности, необходимы тщательный контроль за динамикой онкопроцесса и более «агрессивный» подход к адъювантной химиотерапии.

К сожалению, на данном этапе, эффективных препаратов для таргетного воздействия на киназы сМЕТ, экспрессируемых геном *MET*, не зарегистрировано. Существующие препараты, направленные на ингибирование сМЕТ на стадии доклинических исследований.

Наличие описанных мутаций генов в опухоли (*KRAS*, *NRAS*, *IDH1/2*, *MET*) для клинициста в большей степени имеют прогностическое значение (кроме мутации *IDH1*, на которую в настоящее время существует препарат для таргетного воздействия). Нами также оценена частота встречаемости более редких мутаций других генов (*BRAF600*, *ERBB2*, *PIK3CA*, *EGFR*, *FGFR*, *BRCA1*) и их влияние на результаты хирургического лечения, которые можно рассматривать как мишени для проведения таргетной терапии.

По данным других авторов распространенность мутаций гена *BRAF* составляет 3,3% и характерна именно для внутripеченочной формы холангиоцеллюлярного рака [280]. Мутация гена *BRAF600* встречалась у наших пациентов с частотой 7%. По данным других авторов распространённость мутации *BRAF* составляет 0-22% [224]. При анализе общей выживаемости между диким и мутированным типом гена *BRAF600* достоверной разницы выявлено не было, однако при оценке безрецидивной выживаемости, пациенты с мутированным типом гена *BRAF600* имели худшие показатели. По данным S. Robertson с соавт. мутация BRAF была ассоциирована с тяжелыми стадиями заболевания и большей частотой метастазирования лимфатических узлов. Также в этом исследовании мутации BRAF была ассоциирована с плохим прогнозом общей выживаемости [224]. Рецидив заболевания произошёл у всех пациентов через 6 месяцев после операции. С другой стороны, мутация гена *BRAF600* является важной мишенью для проведения персонализированной терапии, в частности, использование ингибиторов BRAF600 позволяет увеличить общую выживаемость после хирургического лечения. По данным Goerpert B et. al. пациент после терапии ингибиторами BRAF в течение двух лет не имеет признаков рецидива заболевания [96].

У нашей пациентки с ранним рецидивом ВПХЦР после резекции печени использование ингибиторов BRAF600 позволило добиться полного регресса опухоли. По результатам контрольного обследования через 6,5 лет после начала применения препаратов признаков рецидива заболевания нет. В настоящее время, это самая длительная ремиссия рецидивного ВПХЦР после хирургического лечения, описанная в литературе после терапии ингибиторами BRAF.

Амплификация гена *ERBB2* (статус *HER2/neu*) встречалась с частотой 7% и мутация гена *PIK3CA* у исследованных больных наблюдалась с частотой 10%. При изучении влияния этих генетических нарушений на общую и безрецидивную выживаемость после хирургического лечения не обнаружено достоверной разницы между диким и мутированным типом гена *PIK3C* (или отсутствием амплификации гена *HER2/neu*). Вероятнее всего, это обусловлено малой выборкой пациентов, у которых определялись эти генетические альтерации. Несмотря на это, выполнение молекулярно-генетического исследования с целью выявления этих мутаций является крайне важным, так как эти генетические нарушения являются терапевтическими мишенями для проведения таргетной терапии в режиме «офф-лейбл». В частности, включение в схему терапии нашего пациента с амплификацией гена *ERBB2* моноклональных антител на фоне прогрессирования заболевания после хирургического лечения (правосторонняя гемигепатэктомия) после первой и второй линий химиотерапии и локорегионарной терапии позволило стабилизировать течение онкопроцесса.

При реализации персонализированного подхода в лечении пациентов ВПХЦР важное значение имеет прогнозирование течения заболевания. В работах зарубежных авторов изучается эффективность различных номограмм и прогностических шкал в оценке прогноза течения ВПХЦР после хирургического лечения.

В исследовании Yuan С. с соавт. [299] по результатам одновариантного анализа влияние на исход комбинирования лечения ВПХЦР оказывали возраст, пол, хирургическое лечение, химиотерапия, стадия заболевания, наличие метастазов в лимфатических узлах, наличие отдаленных метастазов, размер

опухоли. Многофакторный анализ показал, что прогностическими факторами являются возраст, проведение хирургического лечения, наличие метастазов в лимфатических узлах, наличие отдаленных метастазов, размер опухоли, проведение химиолучевой терапии. Значимые факторы были включены в номограмму. По данным авторов данная номограмма была более информативна в оценке выживаемости у пациентов ВПХЦР по сравнению с 8 редакцией AJCC. С-индекс 0,761(95% CI, 0,751-0,771) vs 0,607 (95% CI, 0,598-0,612). Однако в данной номограмме учитывались клиничко-морфологические факторы без учета молекулярно-генетических факторов.

В исследовании Chen Y. с соавт. [61] исследовалась номограмма, включавшая, кроме клиничко-морфологических факторов, наиболее распространенные по мнению авторов, генетические альтерации - мутации генов *KRAS* и *IDH1/2*. При однофакторном и многофакторном регрессионном анализе данные мутации не оказались значимыми в отношении выживаемости.

По анализу современной литературы прогнозирование течения ВПХЦР в российской популяции ранее не приводилась. В связи с этим на основании анализа выживаемости пациентов после хирургического лечения с учетом влияния различных клиничко-морфологических и молекулярно-генетических факторов нами составлена прогностическая шкала, позволяющая с высокой вероятностью оценить прогноз заболевания. При этом в отношении мутации гена *KRAS* мы получили аналогичные с Chen Y. с соавт. данные, в то же время мутация генов *IDH1/2* оказалась прогностически значимой. Данная прогностическая шкала позволяет выделить когорту пациентов, входящих в группы риска, т.е. раннего рецидива заболевания и требующих более активного динамического наблюдения. В основе данной шкалы положен принцип балльной оценки факторов риска. Каждый балл формируется путем суммирования факторов риска, которые оказали достоверное влияние на отдаленные результаты хирургического лечения на основании статистического анализа. При этом наблюдается обратная пропорциональная зависимость набранных баллов и негативного прогноза, то есть, чем меньше балл, тем лучше прогноз.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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.

Использование предложенной прогностической шкалы, которая учитывает кроме клинико-морфологических факторов, также и молекулярно-генетические

характеристики опухоли, и позволяет выделить группы больных с благоприятным и неблагоприятным прогнозом. Прогнозирование течения ВПХЦР помогает оптимизировать тактику послеоперационного ведения больных. В частности, это дает возможность у определенной категории больных корректировать существующую терапию путем отказа от агрессивной лечебной (хирургической, лекарственной, лучевой) тактики во избежание побочных эффектов и осложнений лечения и сохранить качество жизни на исходном уровне. Это способствует также уменьшению финансовых затрат на лечение данной категории больных.

## ВЫВОДЫ

1. Медиана общей выживаемости пациентов после проведенного комбинированного (хирургическое и адъювантное противоопухолевое 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 с 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-β1 (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 (CA19-9).

7. Разработанная прогностическая шкала на основании клинικο-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 ультразвук-направленного 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 исследованием удаленных лимфоузлов позволяет адекватно стадировать заболевание.

3. После хирургического лечения выполнение адъювантной 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 клинико-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.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

На основании полученных результатов разработаны линейные шкалы прогнозирования исходов хирургического лечения пациентов ВПХЦР. Полученная математическая модель прогнозирования, учитывающая клиничко-демографические и молекулярно-генетические факторы прогноза, может применяться в дальнейшем для создания более совершенных технологий и предикторов для оценки выживаемости пациента. Базовые исследования в отношении TGF- $\beta$ 1, как нового маркера рецидива заболевания, могут применяться для дальнейшего изучения в этом направлении. Результаты диссертационной работы могут применяться в дальнейшем при изучении патогенеза билиарного рака.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- АПХТ — адьювантная полихимиотерапия
- ВПХЦР — внутripеченочный холангиоцеллюлярный рак
- ГДС — гепатодуоденальная связка
- ИГХ — иммуногистохимическое исследование
- ИОУЗИ — интраоперационное ультразвуковое исследование
- МРТ — магнитно-резонансная томография
- МРХПГ — магнитно-резонансная панкреатохолангиография
- МСКТ — мультиспиральная компьютерная томография
- ПГГЭ — правосторонняя гемигепатэктомия
- ПНИ — периневральная инвазия
- ПСХ — первичный склерозирующий холангит
- ПХТ — полихимиотерапия
- ПЦР — полимеразно-цепная реакция
- рЛГГЭ — расширенная левосторонняя гемигепатэктомия
- рПГГЭ — расширенная правосторонняя гемигепатэктомия
- РЧА — радиочастотная абляция
- ст.ПГГЭ — стандартная правосторонняя гемигепатэктомия
- стЛГГЭ — стандартная левосторонняя гемигепатэктомия
- ТАХЭ — трансартериальная химиоэмболизация
- ХЦР — холангиоцеллюлярный рак
- ЧЧХГ — чрескожно-чреспеченочная холангиография
- ЭРХПГ — эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография
- ALPPS — Associated Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy
- D2 — удаление регионарных лимфатических узлов
- NGS — новое генетическое секвенирование
- R-статус — состояние края резекции
- TGF- $\beta$ 1 — трансформирующий фактор роста бета1

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Базин, И.С Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком печени и внепеченочных желчных протоков / Базин И.С., Бредер В.В., Виршке Э.Р. и др. — М., 2014. 49 с.
2. Бредер, В. В. Практические рекомендации по лекарственному лечению билиарного рака / Бредер В. В., Косырев В. Ю., Ледин Е. В. // Злокачественные опухоли: Практические рекомендации. — 2017. — Т. 7. — С. 352–366.
3. Бредер, В.В. Рак желчевыводящей системы / Бредер В.В. // Практическая онкология. — 2012. — Т.13. — № 4. — С. 269–275.
4. Вишневский, В.А. Операции на печени. Руководство для хирургов / Вишневский В.А., Кубышкин В.А., Чжао А.В., Икрамов Р.З.— М.: «Миклош»-2003.—160 с.
5. Водолажский, Д.И. Связь мутации гена KRAS с клинико-патологическими особенностями колоректального рака у пациентов юга России / Водолажский Д.И., Антонец А.В., Двадненко К.В. и др. // Международный журнал экспериментального образования. — 2014. —№1(1). — С.65-68.
6. Восканян, С.Э. ALPPS в преодолении малого остаточного объема печени при альвеококкозе / Восканян С.Э., Артемьев А.И., Найденов Е.В. и др. // Анналы хирургической гепатологии. — 2018. — №23(4). — С. 21–32.
7. Гришечкина, И. А. Актуальные аспекты диагностики внутрипеченочной холангиокарциномы / Гришечкина И. А., Викторова И. А., Трухан Д.И., Кондратьева Н. А. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2016. – №11. — С. 61–65.
8. Гурмиков, Б.Н. Молекулярно-генетические аспекты внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака: обзор литературы / Гурмиков Б.Н., Коваленко Ю.А., Вишневский В.А., Чжао А.В. // Успехи молекулярной онкологии. — 2019. — №6(1). — С.37–43.

9. Жариков, Ю.О. Внутривеночный холангиоцеллюлярный рак (обзор) / Жариков Ю.О., Шевченко Т.В., Чжао А.В. // Современная онкология. — 2015. — N 17 (2). — P. С.18-25.
10. Имянитов, Е.Н. Мутации в гене KRAS: значение в патогенезе и клиническом течении колоректального рака / Имянитов Е.Н., Гуляев А.В., Моисеенко А.Б. // Колопроктология. — 2011. — № 3 (37). — С. 64.
11. Ионкин, Д.А. Радиочастотная абляция при метастазах колоректального рака в печень / Ионкин Д.А., Вишневский В.А., Жаворонкова О.И. и др. // Высокотехнологическая медицина. — 2014. — №2. <http://hightechsurgery.ru/download/journal-htm/journal-htm-01-12-2014.pdf>.
12. Кармазановский, Г.Г. Применение гадоксетовой кислоты (Примовист) для диагностики очаговых заболеваний печени: имеющиеся достижения и возможности дальнейшего улучшения протокола полного обследования печени с помощью МРТ / Кармазановский Г.Г., Шимановский Н. Л. // Медицинская визуализация. — 2011. — №5. — С. 133–142.
13. Лукьянченко, А.Б. Внутривеночная холангиокарцинома / Лукьянченко А.Б., Медведева Б.М., Шабанов М.А. и др. // Вестник рентгенологии и радиологии. — 2015. — №1. — С. 52–63.
14. Мелехина, О.В. Хирургические методы профилактики печеночной недостаточности после обширной резекции печени / Мелехина О.В., Ефанов М.Г., Алиханов Р. Б. и др. // Анналы хирургической гепатологии. — 2016. — №21(3). — С. 47–55.
15. Патютко, Ю.И. Хирургическое и комбинированное лечение больных холангиоцеллюлярным раком / Патютко Ю.И., Поляков А.Н., Котельников А.Г. и др. // Хирургия. — 2015. — №11. — С. 11–18.
16. Подымова, С. Д. Болезни печени: Руководство для врачей / Подымова С. Д. — М.; 2005. — 522 с.
17. Ротин, Д.Л. Холангиоцеллюлярная карцинома сегодня. Литературный аналитический обзор / Ротин Д.Л. // Злокачественные опухоли. — 2015. — N 3(14). — С. 3-16.

18. Скипенко, О.Г. ALPPS — новая возможность двухэтапного хирургического лечения больных с метастазами рака толстой кишки / Скипенко О.Г., Чардаров Н.К., Багмет Н.Н. и др. // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. — 2014. — №9. — С. 23–29.
19. Чжао, А.В. Холангиоцеллюлярная карцинома/ под ред. А.В. Чжао. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021, .287 с.
20. Abou-Alfa, G. K. Advances in cholangiocarcinoma research: report from the third Cholangiocarcinoma Foundation Annual Conference / Abou-Alfa G. K., Andersen B., Chapman W., Choti M. // Journal of Gastrointestinal Oncology. — 2016. —N 7(6). — P. 819-827.
21. Abou-Alfa, G.K. Ivosidenib in IDH 1-mutant, chemotherapy-refractory cholangiocarcinoma (ClarIDHy): a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study / Abou-Alfa G.K., Macarulla T., Javle M.M. et al. // Lancet Oncol. — 2020. — N 21(6). — P. 796-807.
22. Akita, M. Dichotomy in intrahepatic cholangiocarcinomas based on histologic similarities to hilar cholangiocarcinomas / Akita M., Fujikura K., Ajiki T., et al. // Mod. Pathol. — 2017. — N 30. — P. 986-997.
23. Aliberti, C. Chemoembolization (TACE) of unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma with slow-release doxorubicin-eluting beads: Preliminary results / Aliberti C., Benea G., Tilli M., Fiorentini G. // Cardiovasc. Intervent. Radiol. — 2008. — Vol. 31. — N 5. — P. 883-888.
24. Amin, M.B. AJCC cancer staging manual / Amin M.B., Edge S., Greene F. et al. // MBA: American Joint Committee on Cancer. Springer. — 2017.
25. Amin, M.B. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging / Amin M.B., Greene F.L., Edge S.B. et al. // CA Cancer. J. Clin. — 2017. — N 67(2). — P.93-99.
26. Amini, N. Temporal trends in liver-directed therapy of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a population based analysis /

Amini N., Ejaz A., Spolverato G. et al. // *J. Surg. Oncol.* — 2014. — N 110. — P. 163-170.

27. Andersen, J.B. Genomic and genetic characterization of cholangiocarcinoma identifies therapeutic targets for tyrosine kinase inhibitors / Andersen J.B., Spee B., Blechacz B.R. et al. // *Gastroenterology.* — 2012. — N 142. — P. 1021-1031.e15.

28. Angelico, R. Vascular Involvements in Cholangiocarcinoma: Tips and Tricks / Angelico R., Sensi B., Parente A. et al. // *Cancers.* — 2021. — N 13. — P. 3735.

29. Araki, K. E/N-cadherin switch mediates cancer progression via TGF-beta-induced epithelial-to-mesenchymal transition in extrahepatic cholangiocarcinoma / Araki K., Shimura T., Suzuki H. et al. // *Br. J. Cancer.* — 2011. — N 105. — P. 1885-1893.

30. Bagante, F. Intrahepatic cholangiocarcinoma tumor burden: A classification and regression tree model to define prognostic groups after resection / Bagante F., Spolverato G., Merath K. et al. // *Surgery.* — 2019. — N 166(6). — P. 983-990.

31. Banales, J.M. Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management / Banales, J.M., Marin, J.J.G., Lamarca, A. et al. // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* — 2020. — N 17. — P. 557–588.

32. Barat, S. Targeting c-MET by LY2801653 for treatment of cholangiocarcinoma / Barat S., Bozko P., Chen X. et al. // *Mol. Carcinog.* — 2016. — N. 55(12). — P. 2037-2050.

33. Bartsch, F. Intrahepatic cholangiocarcinoma –influence of resection margin and tumor distance to the liver capsule on survival / Bartsch F., Baumgart J, Hope-Lotichius M. et al. // *BMC Surg.* 2020. — N 20. — P. 61.

34. Beal, E.W. Surgical Treatment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Current and Emerging Principles / Beal E.W., Cloyd J.M., Pawlik T.M. // *J. Clin. Med.* — 2020. — N 10(1). — P. 104.

35. Bekaii-Saab, T.S. KRYSTAL-1: Updated activity and safety of adagrasib (MRTX 849) in patients with unresectable or metastatic pancreatic cancer and other

gastrointestinal tumors harboring a KRAS G12C mutation / Bekaii-Saab T.S., Spira A.I., Yaeger R., et al. // 2022 ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium. Abstract 519. Januar 21, 2022.

36. Blechacz, B. Cholangiocarcinoma: Current Knowledge and New Developments / Blechacz B. // *Gut Liver*. — 2017. — N 11(1). — P. 13-26.

37. Blechacz, B. Clinical diagnosis and staging of cholangiocarcinoma / Blechacz B., Komuta M., Roskams T., Gores G.J. // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* — 2011. — N 8 (9). — P. 512–522.

38. Blechacz, B.G. Tumors of the Bile Ducts, Gallbladder, and Ampulla / Blechacz B.G., Feldman G.J. // *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. — 2010. — N 1. — P. 1171–1176.

39. Boeckx, N. Prognostic and Predictive Value of RAS Gene Mutations in Colorectal Cancer: Moving Beyond KRAS Exon 2 / Boeckx N., Peeters M., Van Camp G. et al. // *Drugs*. — 2015. — N 75(15). — P. 1739–1756.

40. Borad, M.J. Integrated genomic characterization reveals novel, therapeutically relevant drug targets in FGFR and EGFR pathways in sporadic intrahepatic cholangiocarcinoma / Borad M.J., Champion M.D, Egan J.B. // *PLoS Genet*. — 2014. — N 10(2):e1004135.

41. Borger, D.R. Frequent mutation of isocitrate dehydrogenase (IDH)1 and IDH2 in cholangiocarcinoma identified through broad based tumor genotyping / Borger D.R., Tanabe K.K., Fan K.C. et al. // *Oncologist*. — 2012. — N17(1). — P. 5-8.

42. Boscoe, A.N. Frequency and prognostic significance of isocitrate dehydrogenase 1 mutations in cholangiocarcinoma: a systematic literature review / A.N. Boscoe, C. Rolland, R.K. Kelley // *J. Gastrointest. Oncol.* — 2019. — V.10. — №4.— P.751–765.

43. Bottaro, D.P. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product / Bottaro D.P., Rubin J.S, Faletto D.L. et al. // *Science*. — 1991. — N 251(4995). — P. 802–4.

44. Boulter, L. WNT signaling drives cholangiocarcinoma growth and can be pharmacologically inhibited / Boulter L., Guest R.V., Kendall T.J. et al. // *J. Clin. Invest.* — 2015. — N 125(3). — P. 1269–1285.
45. Bragazzi, M. New insights into cholangiocarcinoma: multiple stems and related cell lineages of origin / M. Bragazzi, Lorenzo Ridola, Samira Safarikia et al. // *Annals of Gastroenterology.* — 2018. — N 31. — P. 1-14.
46. Brandi, G. Percutaneous radiofrequency ablation in intrahepatic cholangiocarcinoma: a retrospective single-center experience / Brandi G., Rizzo A., Dall'olio F.G. et al. // *Int. J. hyperthermia.* — 2020. — N 37(1). — P. 479-485.
47. Brierley, J.D. TNM classification of malignant tumours / Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind Ch. // *Eighth Edition.* — 2017. <https://www.hoofdhalskanker.info/wpavl/wp-content/uploads/TNM-Classification-of-Malignant-Tumours-8th-edition.pdf>
48. Brown, K.M. Intrahepatic Cholangiocarcinoma / Brown K.M., Parmar A.D., Geller D.A // *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* — 2014. — N 2. — P. 231-246.
49. Buettner, S. Intrahepatic cholangiocarcinoma: current perspectives / Buettner S., van Vugt J.L., Ijzermans J.N., Groot Koerkamp B. // *Onco Targets Ther.* 2017. — N 10. — P. 1131-1142
50. Buettner, S. The effect of preoperative chemotherapy treatment in surgically treated intrahepatic cholangiocarcinoma patients – a multi-institutional analysis / Buettner S., Groot Koerkamp B., Ejaz A. et al. // *J. Surg. Oncol.* In press. — 2016. — N 115(3). — P. 312-318.
51. Burger, I. Transcatheter arterial chemoembolization in unresectable cholangiocarcinoma: initial experience in a single institution / Burger I., Hong K., Schulick R. et al. // *J. Vasc. Interv. Radiol.* — 2005. — N 16. — P. 353–361.
52. Butros, S.R. Radiofrequency ablation of intrahepatic cholangiocarcinoma: feasibility, local tumor control, and long-term outcome / Butros S.R., Shenoy-Bhangle A., Mueller P.R., Arellano R.S. *Clin Imaging.* — 2014. — N 38. — P. 490–494.

53. Cao, J. Intrahepatic cholangiocarcinoma: Genomic heterogeneity between eastern and western patients / Cao J., Hu J., Liu S. et al. // *JCO Precis. Oncol.* — 2020. — N 4: PO.18.00414.
54. Cardinale, V. Multiple cells of origin in cholangiocarcinoma underlie biological, epidemiological and clinical heterogeneity / Cardinale V., Carpino G., Reid L. et al. // *World. J. Gastrointest. Oncol.* — 2012. — N 4. — P. 94–102.
55. Carpizo, D.R. Management and extent of resection for intrahepatic cholangiocarcinoma / Carpizo D.R., D'Angelica M. // *Surg. Oncol. Clin. N.Am.* — 2009. — N 18(2). — P. 289-305.
56. Carrafiello, G. Radiofrequency ablation of intrahepatic cholangiocarcinoma: preliminary experience / Carrafiello G., Lagana` D., Cotta E. et al. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* — 2010. — N 33. — P. 835–839.
57. Chang, Y.T. Clinicopathological and prognostic significances of EGFR, KRAS and BRAF mutations in biliary tract carcinomas in Taiwan / Chang Y.T., Chang M.C., Huang KW. et al. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2014. — N 29. — P. 1119-1125.
58. Chatterjee, D. Perineural and intraneural invasion in posttherapy pancreaticoduodenectomy specimens predicts poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma / D. Chatterjee, M. Katz, F Rashid et al. // *Am. J. Surg. Pathol.* — 2012. — N 36(3). — P. 409-417.
59. Chen, L.D. Enhancement patterns of intrahepatic cholangiocarcinoma: comparison between contrast-enhanced ultrasound and contrast-enhanced CT. *Brit J Radiol* / Chen L.D., Xu H.X., Xie X.Y. et al. // *J. Radiol.* — 2008. — N 81. — P. 881–889.
60. Chen, M.H. Antitumor activity of the combination of an HSP90 inhibitor and a PI3K/mTOR dual inhibitor against cholangiocarcinoma / Chen M.H., Chiang K.C., Cheng C.T. et al. // *Oncotarget.* — 2014. — N 5. — P. 2372-2389.
61. Chen, Y. Development and validation of a nomogram model to predict the prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma / Y. Chen, L.Huang, Z.Wei..13 april 2022, PREPRINT at Reserch Square.
62. Chiang, N.-J. Development of Possible Next Line of Systemic Therapies for Gemcitabine-Resistant Biliary Tract Cancers: A Perspective from Clinical Trials /

Chiang, N.-J.; Chen, L.-T.; Shan, Y.-S. et al. // *Biomolecules*. — 2021. — N 11. — P. 97.

63. Chiou, Y.Y. Percutaneous ultrasound-guided radiofrequency ablation of intrahepatic cholangiocarcinoma / Chiou Y.Y., Hwang J.I., Chou Y.H. et al. // *Kaohsiung J. Med. Sci.* — 2005. — N 21. — P. 304–309.

64. Choi, S.B. The prognosis and survival outcome of intrahepatic cholangiocarcinoma following surgical resection: association of lymph node metastasis and lymph node dissection with survival / Choi S.B., Kim K.S., Choi J.Y. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2009. — N 16(11). — P. 3048-3056.

65. Chung, Y.E. Varying appearances of cholangiocarcinoma: radiologic-pathologic correlation / Chung Y.E., Kim M.J., Park Y.N. et al. // *Radiographics*. — 2009. — N 29 (3). — P. 683–700.

66. Churi, C.R. Mutation profiling in cholangiocarcinoma: prognostic and therapeutic implications. / C.R. Churi, R. Shroff, Y. Wang et al. // *PLoS One*. — 2014. — V.9. — №12. — e115383.

67. Corvera, C.U. 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography influences management decisions in patients with biliary cancer / Corvera C.U., Blumgart L.H., Akhurst T. et al. // *J. Am. Coll. Surg.* — 2008. — N 206(1). — P. 57–65.

68. Costello, B.A. Phase I trial of everolimus, gemcitabine and cisplatin in patients with solid tumors / Costello B.A., Borad M.J., Qi Y. et al. // *Invest. New Drugs*. — 2014. — N. 32(4). — P. 710-716.

69. Davare, M.A. Foretinib is a potent inhibitor of oncogenic ROS1 fusion proteins / Davare M.A., Saborowski A., Eide C.A. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. — 2013. — N. 110(48). — P. 19519-19524.

70. David, C.J. Contextual determinants of TGF $\beta$  action in development, immunity and cancer / David, C.J.; Massagué // *J. Nat. Rev. Mol. Cell Boil.* — 2018. — N 19. — P. 419–435.

71. Davies, H. Mutations of the BRAF gene in human cancer / Davies H., Bignell G.R., Cox C. et al. // *Nature*. — 2002. — N 417. — P. 949-954.

72. de Jong, M.C. Intrahepatic cholangiocarcinoma: an international multi-institutional analysis of prognostic factors and lymph node assessment / de Jong M.C., Nathan H., Sotiropoulos G.C. et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — N 29(23). — P. 3140-3145.
73. de Santibañes, E. Playing Play-Doh to prevent postoperative liver failure: the «ALPPS» approach / de Santibañes E., Clavien P.A. // *Ann. Surg.* — 2012. — N 255(3). — P. 415-417.
74. Deng, Y. KRAS as a predictor of poor prognosis and benefit from postoperative FOLFOX chemotherapy in patients with stage II and III colorectal cancer / Deng Y., Wang L., Tan S. et al. // *Molecular oncology.* — 2015. — N 9(7). — P. 1341–1347.
75. DeOliveira, M.L. Cholangiocarcinoma: thirty-one-year experience with 564 patients at a single institution / DeOliveira M.L., Cunningham S.C., Cameron J.L. et al. // *Ann. Surg.* — 2007. — N 245(5). — P. 755–762.
76. DeOliveira, M.L. Liver transplantation for cholangiocarcinoma: current best practice / DeOliveira M.L. // *Curr. Opin. Org. Transplant.* — 2014. — N 19 (3). — P. 245-252.
77. Doherty, M. Molecular profiling of advanced biliary cancer: Lost in translation from bench to bedside / Doherty M., Chiu J.W.Y., McNamara M.G., et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2016. — N 34. — P. 283 10.1200/jco.2016.34.4\_suppl.283
78. Doussot, A. Outcomes after Resection of Intrahepatic Cholangiocarcinoma: External Validation and Comparison of Prognostic Models / Doussot A., Groot-Koerkamp B., Wiggers J.K., Chou J. et al. // *J. Am. Coll. Surg.* — 2015. — N.221(2). — P.452-461.
79. Doussot, A. Recurrence patterns and disease-free survival after resection of intrahepatic cholangiocarcinoma: preoperative and postoperative prognostic models / Doussot A., Gonen M., Wiggers J.K. et al. // *J. Am. Coll. Surg.* — 2016. — N 223. — P. 493–505 -492.

80. Dvir, K. Advances in Cholangiocarcinoma Treatment in the Personalized Medicine Era / Dvir K., Galarza Fortuna G.M., Guerra V. et al. // *J. Can. Res. Rev. Rep.* — 2020. — N 2(2). — P. 1-2.
81. Edeline, J. Gemcitabine and oxaliplatin chemotherapy or surveillance in resected biliary tract cancer (PRODIGE 12-ACCORD 18-UNICANCER GI): a randomized phase study / J. Edeline, M. Benabdelghani, A. Bertaut et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2019. — N 37. — P. 658-667.
82. Esnaola, N.F. Evaluation and management of intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma / Esnaola, N.F., Meyer, J.E., Karachristos, A. et al. // *Cancer.* — 2016. — N 122. — P. 1349-1369.
83. Ewald, F. Combined targeting of AKT and mTOR using MK-2206 and RAD001 is synergistic in the treatment of cholangiocarcinoma / Ewald F., Grabinski N., Grottke A. et al. // *Int. J. Cancer.* — 2013. — N 133(9). — P. 2065-2076.
84. Fabregat, I. Transforming Growth Factor- $\beta$ -Induced Cell Plasticity in Liver Fibrosis and Hepatocarcinogenesis / Fabregat, I.; Caballero-Díaz, D. // *Front. Oncol.* — 2018. — N 8. — P. 357.
85. Fan, B. Cholangiocarcinomas can originate from hepatocytes in mice / Fan B., Malato Y., Calvisi D.F. et al. // *J. Clin. Invest.* — 2012. — N 122. — P. 2911–2915.
86. Fernandes Neto, J.M. Multiple low dose therapy as an effective strategy to treat EGFR inhibitor-resistant NSCLC tumours / Fernandes Neto, J.M., Nadal, E., Bosdriesz, E. et al. // *Nat. Commun.* — 2020. — N 11. — P. 3157.
87. Ferrucci, P.F. A New Option for the Treatment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Percutaneous Hepatic Perfusion with CHEMOSAT Delivery System / Ferrucci P.F., Cocorocchio E., Bonomo G. et al. // *Cells.* — 2021. — N 10(1). — P. 70.
88. Finn, R. Phase 1b investigation of the MEK inhibitor in patients with advanced or metastatic biliary tract cancer / R. Finn, D. Ahn, M. Javle et al. // *Invest New Drugs.* — 2018. — N 36(6). — P. 1037-1043.

89. Finn, R.S. Phase 1 investigation of the MEK inhibitor binimetinib in patients advanced or metastatic biliary tract cancer / Finn R.S., Ahn D.H., Javle M.M. et al. // *Invest. New Drugs*. — 2018. — N. 36(6). — P. 1037-1043.
90. Fu, Y. Radiofrequency ablation in the management of unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma / Fu Y., Yang W., Wu W. // *J. Vasc. Interv. Radiol.* — 2012. — N 23. — P. 642-649.
91. Fujimoto, A. Whole-genome mutational landscape of liver cancers displaying biliary phenotype reveals hepatitis impact and molecular diversity / Fujimoto A., Furuta M., Shiraishi Y. et al. // *Nat. Commun.* — 2015. — N 6. — P. 6120. 10.1038/ncomms7120.
92. Gall, T.M. Radio-frequency-assisted liver partition with portal vein ligation (RALPP) for liver regeneration / Gall T.M., Sodergren M.H., Frampton A.E. et al. // *Ann. Surg.* — 2015. — N 261(2). — P. 45–46.
93. Ghidini, M. Adjuvant chemotherapy for resected biliary tract cancers: a systematic review and meta-analysis / M. Ghidini, et al. // *HPB (Oxford)*. — 2017. — N19 (9). — P. 741-748.
94. Ghouri, Y.A. Cancer review: Cholangiocarcinoma / Ghouri Y.A., Mian I., Blechacz B. // *J. Carcinog.* — 2015. — N 14. — P. 1.
95. Giorgio, A. Radiofrequency ablation for intrahepatic cholangiocarcinoma: retrospective analysis of a single centre experience / Giorgio A., Calisti G., DE Stefano G. et al. // *Anticancer. Res.* — 2011. — N 31. — P. 4575-4580.
96. Goeppert, B. BRAF V600E-specific immunohistochemistry reveals low mutation rates in biliary tract cancer and restriction to intrahepatic cholangiocarcinoma / Goeppert, B., Frauenschuh, L., Renner, M. et al. // *Mod. Pathol.* — 2014. — N 27. — P. 1028–1034.
97. Goeppert, B. Integrative analysis reveals early and distinct genetic and epigenetic changes in intraductal papillary and tubulopapillary cholangiocarcinogenesis / Goeppert B., Stichel D., Toth R. et al. // *Gut*. — 2022. — N 71. — P. 391-401.

98. Groot Koerkamp, B. American joint committee on cancer staging for resected perihilar cholangiocarcinoma: a comparison of the 6th and 7th editions / Groot Koerkamp B. et al. // *HPB*. — 2014. — N 16. — P. 1074–1082.

99. Gruenberger, B. Cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with unresectable advanced or metastatic biliary tract cancer: a phase 2 study / Gruenberger B., Schueller J., Heubrandtner U. et al. // *Lancet Oncol.* — 2010. — N 11(12). — P. 1142-1148.

100. Guo, C. TP53 /KRAS Co-Mutations Create Divergent Prognosis Signatures in Intrahepatic Cholangiocarcinoma / Guo C., Liu Z., Yu Y. et al. // *Front. Genet.* — 2022. — N13. — P. 844800.

101. Guro, H. Multidisciplinary management of intrahepatic cholangiocarcinoma: Current approaches / Guro H., Kim Jin Won, Choi YoungRok et al. // *Surgical Oncology*. — 2017. — N 26. — P. 146-152.

102. Gwak, G.Y. Detection of response-predicting mutations in the kinase domain of the epidermal growth factor receptor gene in cholangiocarcinomas / Gwak G.Y., Yoon J.H., Shin C.M. et al. // *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* — 2005. — N 131. — P. 649-652.

103. Haidu, M. Stereotactic radiofrequency ablation of unresectable intrahepatic cholangiocarcinomas: a retrospective study / Haidu M., Dobrozemsky G., Schullian P. et al. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* — 2012. — N 35. — P. 1074–1082.

104. Hainsworth, J.D. Targeted Therapy for Advanced Solid Tumors on the Basis of Molecular Profiles: Results From MyPathway, an Open-Label, Phase IIa Multiple Basket Study / Hainsworth J.D., Meric-Bernstam F., Swanton C. et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2018. — N. 36. — P. 536-542.

105. Hamidi, H. KRAS mutational subtype and copy number predict in vitro response of human pancreatic cancer cell lines to MEK inhibition / Hamidi H., Lu M., Chau K. et al. // *Br. J. Cancer*. — 2014. — N 111(9). — P. 1788-1801.

106. Han, K. Radiofrequency Ablation in the Treatment of Unresectable Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Systematic Review and Meta-Analysis / Han K., Ko H.K., Kim K.W. et al. // *JVIR* — 2015. — N 26(7). — P. 943–948.

107. Harder, J. EGFR and HER2 expression in advanced biliary tract cancer / Harder J., Waiz O., Otto F. et al. // *World. J. Gastroenterol.* — 2009. — N 15(36) — P. 4511-4517.

108. Heimbach, J. K. Trans-peritoneal fine needle aspiration biopsy of hilar cholangiocarcinoma is associated with disease dissemination / Heimbach, J. K., Sanchez, W., Rosen, C. B., Gores, G. J. // *HPB.* — 2011. — N 13(5). — P. 356–360.

109. Heinrich, S. Portal vein ligation and partial hepatectomy differentially influence growth of intrahepatic metastasis and liver regeneration in mice / Heinrich S., Jochum W., Graf R., Clavien P.A. // *J. Hepatol.* — 2006. — N 45(1). — P. 35–42.

110. Hess, T. Comprehensive genomic characterization of intrahepatic cholangiocarcinoma / Hess T., Bertrand C., Chan C. // *Med. Genet.* — 2015. — N 27. — P. 79-196.

111. Hibino, S. Inhibitors of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) activate tumor-suppressor microRNAs in human cancer cells / Hibino S., Saito Y., Muramatsu T. et al. // *Oncogenesis.* — 2014. — N 3. — P. 104.

112. Hochwald, S.N. Association of preoperative biliary stenting with increased postoperative infectious complications in proximal cholangiocarcinoma / Hochwald S.N., Burke E.C., Jarnagin W.R. et al. // *Arch. Surg.* — 1999. — N 134. — P. 261–266.

113. Hoffmann, K. Markers of liver regeneration –the role of growth factors and cytokines: a systematic review / K.Hoffmann, A.Nagel, K.Tanabe, et al. // *BMC Surg.* — 2020. — N. 20. — P. 31(2020).

114. Hollebecque, A. Interim results of figth-202, a phase II, open-label, multicenter study of INCB054828 in patients (pts) with previously treated advanced/metastatic or surgically unresectable cholangiocarcinoma (CCA) with/without fibroblast growth factor (FGF)/FGF receptor (FGFR) genetic alterations / Hollebecque A., Borad M., Sahai V. et al. // *Annals of Oncology.* — 2018. — Vol. 29. — N 8.

115. Hong, D. S. Phase 1B Study of Vemurafenib in Combination with Irinotecan and Cetuximab in Patients with Metastatic Colorectal Cancer with BRAF

V600E Mutation / Hong D. S., Morris V. K., El Osta B. et al. // *Cancer. Discov.* — 2016. — N 6(12). — P. 1352-1365.

116. Hu, L.-S. Impact of microvascular invasion on clinical outcomes after curative-intent resection for intrahepatic cholangiocarcinoma / Hu L.-S., Weiss M., Popescu I. et al. // *J. Surg. Oncol.* — 2019. — N 119. — P. 21- 29.

117. Huang, C.-K. Expression of Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 Promotes Cholangiocarcinoma Development and Progression / Huang C.-K., Aihara A., Iwagami Y. et al. // *Cancer. Lett.* — 2016. — N 380. — P. 153–162.

118. Huang, J.J. Dichotomous Roles of TGF- $\beta$  in Human Cancer / Huang, J.J.; Blobel, G.C. // *Biochem. Soc. Trans.* — 2016. — N 44. — P. 1441–1454.

119. Huang, Q.X. Screening of potential biomarkers for cholangiocarcinoma by integrated analysis of microarray data sets / Huang Q.X., Cui J.Y., Ma H. et al. // *Cancer. Gene Ther.* — 2016. — N 23. — P. 48-53.

120. Huang, W. Mutation analysis and copy number changes of KRAS and BRAF genes in Taiwanese cases of biliary tract cholangiocarcinoma / Huang W., Tsai C.C., Chan C.C. // *J. Formos. Med. Assoc.* — 2017. — N 116(6). — P. 464-468.

121. Huang, X.Y. Comprehensive multiple molecular profile of epithelial mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma patients / X.Y. Huang, C. Zhang, J.B. Cai et al. // *PLoS One.* — 2014. — Vol.9. - №5. — P. e96860.

122. Hue, J.J. A comparison of surgical resection and liver transplantation in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma in the era of modern chemotherapy: An analysis of the National Cancer Database / Hue J.J., Rocha F.G., Ammori J.B. et al. // *J. Surg. Oncol.* — 2021. — N 123(4). — P. 949-956.

123. Huguet, J.M. Diagnostic-therapeutic management of bile duct cancer / Huguet J.M., Lobo M., Labrador J.M. et al. // *World J. Clin. Cases.* — 2019. — N 7(14). — P. 1732-1752.

124. Hyder, O. A nomogram to predict long-term survival after resection for intrahepatic cholangiocarcinoma: an eastern and western experience / Hyder O., Marques H., Pulitano C. et al. // *JAMA Surg.* — 2014. — N 149(5). — P. 432-438.

125. Hyder, O. Recurrence after operative management of intrahepatic cholangiocarcinoma / Hyder O., Hatzaras I., Sotiropoulos G.C. et al. // *Surgery*. — 2013. — N 153. — P.811–818.

126. Ihle, N.T. Effect of KRAS Oncogene Substitutions on Protein Behavior: Implications for Signaling and Clinical Outcome / Ihle N.T., Byers L.A., Kim E.S. et al. // *J. Natl. Cancer. Inst.* — 2012. — N 104(3). — P. 228–239.

127. Intrahepatic cholangiocarcinoma: current management and emerging therapies / Amir A. Rahnama-Azar, Allison B. Weisbrod, Mary Dillhoff et al. // *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. — 2017 — N11. — I.5. — P. 439-449.

128. Isomoto, H. Interleukin 6 upregulates myeloid cell leukemia-1 expression through a STAT3 pathway in cholangiocarcinoma cells / Isomoto H., Kobayashi S., Werneburg N.W. et al. // *Hepatology*. — 2005. — N 42. — P. 1329–1338.

129. Jaiswal, M. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism / Jaiswal M., LaRusso N.F., Burgart L.J., Gores G.J. // *Cancer. Res.* — 2000. — N 60. — P.184–190.

130. Javle, M. HER2/neu-directed therapy for biliary tract cancer / Javle M., Churi C., Kang H.C. et al. // *J. Hematol. Oncol.* — 2015. — N 8. — P. 58.

131. Javle, M. Utility of next-generation sequencing for clinical management / M. Javle, T. Bekaii-Saab, A. Jain et al. // *Cancer*. — 2016. — V.122. — №24. — P.3838-3847.

132. Johnson, M. Selective tumorigenesis in non-parenchymal liver epithelial cell lines by hepatocyte growth factor transfection / Johnson M., Koukoulis G., Kochhar K. et al. // *Cancer Letters*. — 1995. — N 96 (1). — P. 37–48.

133. Jonas, S. Extended liver resection for intrahepatic cholangiocarcinoma: a comparison of the prognostic accuracy of the fifth and sixth editions of the TNM classification / Jonas S., Thelen A., Benckert C. et al. // *Ann. Surg.* — 2009. — N 249. — P.303–309.

134. Jusakul, A. Whole-Genome and Epigenomic Landscapes of Etiologically Distinct Subtypes of Cholangiocarcinoma / Jusakul A., Cutcutache I., Yong C.H. et al. // *Cancer. Discov.* — 2017. — N 7. — P. 1116-1135.

135. Kamphues, C. Recurrent intrahepatic cholangiocarcinoma: single-center experience using repeated hepatectomy and radiofrequency ablation / Kamphues C., Seehofer D., Eisele R.M. // *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* — 2010. — N 17. — P. 509-515.
136. Kato, I. Increased risk of death in thorotrast-exposed patients during the late follow-up period / Kato I., Kido C. // *Jpn. J. Cancer. Res.* — 1987. — N 78(11). — P. 1187-1192.
137. Ke, Q. The effect of adjuvant therapy for patients with intrahepatic cholangiocarcinoma after surgical resection: a systematic review and meta-analysis / Ke Q., Lin N., Deng M. et al. // *PLoS ONE.* — 2020. — N 15. — e0229292.
138. Khan, S. A. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: consensus document / Khan S. A., Davidson B. R., Goldin R., Gut. et al. // 2002. — N 51(16). — P. 1—9.
139. Khan, S.A. Epidemiology, risk factors, and pathogenesis of cholangiocarcinoma / Khan S.A., Toledano M.B., Taylor-Robinson S.D. // PB (Oxford). — 2008. — N 10(2). — P. 77–82.
140. Kiefer, M.V. Chemoembolization of intrahepatic cholangiocarcinoma with cisplatin, doxorubicin, mitomycin C, ethiodol, and polyvinyl alcohol: a 2-center study / Kiefer M.V., Albert M., McNally M. et al. // *Cancer.* — 2011. — N 117. — P. 1498–1505.
141. Kiguchi, K. Constitutive expression of ErbB-2 in gallbladder epithelium results in development of adenocarcinoma / Kiguchi K., Carbajal S., Chan K. et al. // *Cancer. Res.* — 2001. — N 61. — P. 6971–6976.
142. Kim, D.H. Is there a role for systematic hepatic pedicle lymphadenectomy in intrahepatic cholangiocarcinoma? A review of 17 years of experience in a tertiary institution / Kim D.H., Choi D.W., Choi S.H. et al. // *Surgery.* — 2015. — N 157(4). — P. 666-675.
143. Kim, J.H. Radiofrequency ablation for the treatment of primary intrahepatic cholangiocarcinoma / Kim J.H., Won H.J., Shin Y.M. et al. // *AJR Am. J. Roentgenol.* — 2011. — N 196. — P. 205–209.

144. Kim, R.D. Randomised phase II trial (SWOG S1310) of single agent MEK inhibitor trametinib Versus 5 -fluor-uracil or capecitabine in refractory advanced biliary cancer / Kim R.D., McDonough S., El-Khoueiry A.B. // *Eur. J. Cancer.* — 2020. — N 130. — P. 219-227.

145. Kim, S.A. Intrahepatic mass-forming cholangiocarcinomas: enhancement patterns at multiphasic CT, with special emphasis on arterial enhancement pattern – correlation with clinicopathologic findings / Kim S.A., Lee J.M., Lee K.B. et al. // *Radiology.* — 2011. — N 260 (1). — P. 148–157.

146. King, D. PI3King the lock: Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway as a novel therapeutic strategy in neuroblastoma / King D., Yeomanson D., Bryant H.E. // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* — 2015. — N 37. — P. 245–251.

147. Kipp, B.R. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cholangiocarcinoma / Kipp B.R., Voss J.S., Kerr S.E. et al. // *Hum Pathol.* — 2012. — N43(10). — P. 1552-1558.

148. Kizy, S. Surgical resection of lymph node positive intrahepatic cholangiocarcinoma may not improve survival / Kizy S., Altman A.M., Marmor S. et al. // *HPB (Oxford).* — 2019. — N 21(2). — P.235-241.

149. Kochhar, K.S. Evidence for autocrine basis of transformation in NIH-3T3 cells transfected with met/HGF receptor gene / Kochhar K.S., Johnson M.E., Volpert O., Iyer A.P. // *Growth Factors.* — 1995. — N 12 (4). — P. 303–313.

150. Konstantinidis, I.T. Unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma: systemic plus hepatic arterial infusion chemotherapy is associated with longer survival in comparison with systemic chemotherapy alone / Konstantinidis I.T., Groot Koerkamp B., Do R.K. et al. // *Cancer.* — 2016. — N 122(5). — P. 758–765.

151. Krenzien, F. Treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma – a multidisciplinary approach / Krenzien F., Nevermann N., Krombholz A. et al. // *Cancers (Basel).* — 2022. — N 14(2). — P. 362.

152. Kuhlmann, J.B. Treatment of unresectable cholangiocarcinoma conventional transarterial chemoembolization compared with drug eluting bead–

transarterial chemoembolization and systemic chemotherapy / Kuhlmann J.B., Euringer W., Spangenberg H.C. et al. // *Eur. J. Gastro. Hepatol.* — 2012. — N 24. — P. 437–443.

153. Kun, E. MEK inhibitor resistance mechanisms and recent developments in combination trials / Kun E., Tsang Y.T.M., Ng C.W. et al. // *Cancer. Treat. Rev.* — 2021. — N 92. — P. 102137.

154. Lamarca, A. A randomized phase III, multicentere, open-label study of active symptom control (ASC) alone or ASC oxaliplatin/ 5-FU chemotherapy (ASC + mFOLFOX) for patients with locally advanced/ metastatic biliary tract cancers (ABC) previously-treated with cisplatin/ gemcitabine (CisGem) chemotherapy / Lamarca A., Palmer D.H., Wasan H.S. et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2019. — V. 37. — P. 4003.

155. Lang, H. Operations for intrahepatic cholangiocarcinoma: single-institution experience of 158 patients / Lang H., Sotiropoulos G.C., Sgourakis G. et al. // *J. Am. Coll. Surg.* — 2009. — N 208(2). — P. 218-228.

156. Langella, S. Recurrence after curative resection for intrahepatic cholangiocarcinoma: how to predict the chance of repeat hepatoectomy? / Langella S., Russolillo N., Ossola P. et al. // *J. Clin. Med.* — 2021. — N 10(13). — P. 2820.

157. Lauterio, A. Current Surgical Management of Peri-Hilar and Intra-Hepatic Cholangiocarcinoma / Lauterio A., De Carlis R., Centonze L. et al. // *Cancers.* — 2021. — N 13(15). — P. 3657.

158. Law, LY. Dramatic response to trastuzumab and paclitaxel in a patient with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic cholangiocarcinoma / Law L.Y. // *Clin. Oncol.* — 2012. — N 30. — P. 271-273.

159. Lee, C.H. Cancer related gene alterations can be detected with next-generation sequencing analysis of bile in diffusely infiltrating type cholangiocarcinoma / C.H. Lee, H.E. Wang, S.Y. Seo et al. // *Exp. Mol. Pathol.* — 2016. — V.101. — №1. — P. 150-156.

160. Lee, H. Comprehensive genomic profiling of extrahepatic cholangiocarcinoma reveals a long tail of therapeutic targets / Lee H., Wang K., Johnson A. et al. // *J. Clin. Pathol.* — 2016. — N 69. — P. 403-408.

161. Lee, J. Gemcitabine and oxaliplatin with or without erlotinib in advanced biliary-tract cancer: a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study / Lee J., Park S.H., Chang H.M. et al. // *Lancet Oncol.* — 2012. — N 13(2). — P. 181-188.

162. Lee, J.H. IDH1 R132C mutation is detected in clear cell hepatocellular carcinoma by pyrosequencing / Lee, J.H., Shin D.H., Park W.Y. et al. // *World. J. Surg. Oncol.* — 2017. — V.15. — №1. — P. 82.

163. Lee, K. Intrahepatic cholangiocarcinomas with IDH1/2 mutation-associated hypermethylation at selective genes and their clinicopathological features / Lee, K., Song, Y.S., Shin, Y. et al. // *Sci. Rep.* — 2020. — N 10. — P. 15820.

164. Leone, F. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in bile duct and gallbladder carcinoma / Leone F., Cavalloni G., Pignochino Y. et al. // *Clin. Cancer. Res.* — 2006. — N 12. — P. 1680-1685.

165. Li, C. Gene expression patterns combined with bioinformatics analysis identify genes associated with cholangiocarcinoma / Li C., Shen W., Shen S., Ai Z. // *Comput. Biol. Chem.* — 2013. — N 47. — P. 192-197.

166. Li, J. Ajuvant Transarterial Chemoembolization Following liver resection for intrahepatic cholangiocarcinoma based on survival risk stratification / Li J., Wang Q., Lei Z. et al. // *Oncologist.* — 2015. — N 20. — P. 640-647.

167. Li, Q. nomogram model to predict early recurrence of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma for adjuvant chemotherapy guidance: a multi-institution Analysis. *Front* / Li Q., Zhang J., Chen C. et al. // *Oncol.* — N 12: 896764.

168. Liang, B. Diagnostic accuracy of serum CA19-9 in patients with cholangiocarcinoma: a systematic review and meta-analysis / Liang B., Zhong L., He Q. et al. // *Med. Sci. Monit.* — 2015. — N 21. — P. 3555-3563.

169. Lim, C. Portal vein occlusion before major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases: rationale, indications, technical aspects, complications and outcome / Lim C., Farges O. // *J. Visc. Surg.* — 2012. — N 149(2). — P. 86—96.

170. Lim, S.M. Rare Incidence of ROS1 Rearrangement in Cholangiocarcinoma / Lim S.M., Yoo J.E., Lim K.H. et al. // *Cancer. Res. Treat.* — 2016. — N 49(1). — P. 185-192.

171. Limpaiboon, T. Promoter hypermethylation is a major event of hMLH1 gene inactivation in liver fluke related cholangiocarcinoma / Limpaiboon T., Khaenam, P., Chinnasri P. et al. // *Cancer. Lett.* — 2005. — N 217. — P. 213–219.

172. Liu, J. Identification of key genes and pathways associated with cholangiocarcinoma development based on weighted gene correlation network analysis / Liu J., Liu W., Li H. et al. // *Peer.J.* — 2019. — N 7. — P.7968.

173. Liu, Q. Spandidos Publications style: Diagnostic value of hepatic artery perfusion fraction combined with TGF- $\beta$  in patients with hepatocellular carcinoma / Liu Q., Gao Y., Wang Y. et al. // *Oncol. Lett.* — 2019. — N17. — P. 5635-5641.

174. Loupakis, F. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer / Loupakis F., Ruzzo A., Cremolini C. et al. // *British journal of cancer.* — 2009. — N.101(4). — P. 715–721.

175. Lowery, M.A. Binimetinib plus gemcitabine and cisplatin phase I/II trial in patients with advanced biliary cancers / Lowery M.A., Bradley M., hau J.F., Capanu M., Gerst S., Harding J.J. et al. // *Clin. Cancer. Res.* — 2019. — N 25(3). — P. 937-945.

176. Lu, C. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation / C. Lu, P.S. Ward, G.S. Kapoor et al. // *Nature.* — 2012. — V.483. — №7390. — P.474-478.

177. Lunsford, K. E. Liver transplantation for locally advanced intrahepatic cholangiocarcinoma treated with neoadjuvant therapy: a prospective case-series. *Lancet Gastroenterol* / Lunsford, K. E. et al. // *Hepatol.* — 2018. — N 3. — P. 337–348.

178. Ma, B. Distinct clinical and prognostic implication of IDH1/2 mutation and other most frequent mutations in large duct and small duct subtypes of intrahepatic cholangiocarcinoma / Ma, B., Meng, H., Tian, Y., et al. // *BMC cancer.* — 2020. — N. 20(1). — P. 318.

179. Ma, K.W. Diagnostic and Prognostic role of 18-FDG PET/CT in the management of resectable biliary tract cancer / Ma K.W., Cheung T.T., She W.H. et al. // *World. J. Surg.* — 2018. — N 42(3). — P. 823-834.

180. Mao, Z. Prognostic factors of cholangiocarcinoma after surgical resection: a retrospective study of 293 patients / Z. Mao, X. Guo, D. Su, L. et al. // *Med. sci. monit.* — 2015. — N 21. — P. 2375-2381.
181. Marcus, K. Direct Attack on RAS: Intramolecular Communication and Mutation-Specific Effects / Marcus K., Mattos C. // *Clin. Cancer. Res.* — 2015. — N 21(8). — P. 1810-1818.
182. Massironi, S. New and Emerging Systemic Therapeutic Options for Advanced Cholangiocarcinoma / Massironi, S.; Pilla, L.; Elvevi, A.; Invernizzi, P. // *Cells.* — 2020. — N 9. — P. 688.
183. Mavros, M.N. Treatment and prognosis for patients with intrahepatic cholangiocarcinoma: systematic review and meta-analysis / Mavros M.N., Economopoulos K.P., Alexiou V.G. et al. // *JAMA Surg.* — 2014. — N 149. — P. 565–574.
184. McCubrey, J.A. Mutations and deregulation of Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascades which alter therapy response / McCubrey J.A., Steelman L.S., Chappell W.H. et al. // *Oncotarget.* — 2012. — N 3(9). — P. 954-987.
185. McRee, A.J. A phase I trial of mFOLFOX6 combined with the oral PI3K inhibitor BKM120 in patients with advanced refractory solid tumors. Invest / McRee A.J., Sanoff H.K., Carlson C. et al. // *New Drugs.* — 2015. — N 33. — P. 1225–1231.
186. Meng, F. Epigenetic regulation of microRNA-370 by interleukin-6 in malignant human cholangiocytes / Meng F., Wehbe-Janek H., Henson R. et al. // *Oncogene.* — 2008. — N 27. — P. 378–386.
187. Meric-Bernstam, F. Advances in HER2-Targeted Therapy: Novel Agents and Opportunities Beyond Breast and Gastric Cancer / Meric-Bernstam F., Johnson A.M., Dumbrava E. et al. // *Clin. Cancer. Res.* — 2019. — N 25(7). — P. 2033-2041.
188. Miyamoto, M. Prognostic significance of overexpression of c-Met oncoprotein in cholangiocarcinoma / Miyamoto M., Ojima H., Iwasaki M. et al // *Br. J. Cancer.* — 2011. — N 105(1). — P. 131-138.

189. Miyamoto, M. Prognostic significance of overexpression of c-Met oncoprotein in cholangiocarcinoma / M. Miyamoto, H. Ojima, M. Iwasaki et al. // *Br. J. Cancer*. — 2011. — N 105(1). — P. 131–138.
190. Miyazono, K. Transforming growth factor- $\beta$  signaling in epithelial-mesenchymal transition and progression of cancer / Miyazono K. // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci.* — 2009. — N 85. — P.314-323.
191. Mizusawa, J. Randomized Phase III study of gemcitabine plus S-1 versus gemcitabine plus cisplatin in advanced biliary tract cancer: Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG1113, FUGA-BT) / Mizusawa J., Morizane C., Okusaka T. et al. // *Jpn. J. Clin. Oncol.* — 2016. — N 46(4). — P. 385-388.
192. Moeini, A. Molecular Pathogenesis and Targeted Therapies for Intrahepatic Cholangiocarcinoma / Moeini A., Sia D., Bardeesy N. et al. // *Clin. Cancer Res.* — 2016. — N 22(2). — P. 291-300.
193. Momiyama, M. Major liver resection stimulates stromal recruitment and metastasis compared with repeated minor resection / M. Momiyama, T. Kumamoto, A. Suetsugu. // *J. Surg. Res.* — 2012. — N.178(1). — P. 280-287.
194. Morise, Z. Surgery and chemotherapy for intrahepaticcholangiocarcinoma / Morise Z., Sugioka A., Tokoro T. et al. // *World J. Hepatol.* — 2010. — N 27. — I. 2(2). — P. 58–64.
195. Murakami, Y. Prognostic factors after surgical resection for intrahepatic, hilar, and distal cholangiocarcinoma / Murakami Y., Uemura K., Sudo T. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2011. — N 18. — P. 651–658.
196. Nakachi, K. Hepatobiliary and Pancreatic Oncology Group. A randomized Phase III trial of adjuvant S-1 therapy vs. observation alone in resected biliary tract cancer: Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG1202, ASOT) / Nakachi K., Konishi M., Ikeda M. et al. // *Jpn. J. Clin. Oncol.* — 2018. — N 48(4). — P. 392-395.
197. Nakagawa, T. Number of lymph node metastases is a significant prognostic factor in intrahepatic cholangiocarcinoma / Nakagawa T., Kamiyama T., Kurauchi N. et al. // *World. J. Surg.* — 2005. — N 29(6). — P. 728-733.

198. Nakaoka, T. DNA Methylation as a Biomarker and Therapeutic Target of Cholangiocarcinoma / Nakaoka T., Saito Y., Saito H. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* — 2017. — N 18(6). — P. 1111.
199. Nakazawa, K. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers / Nakazawa K., Dobashi Y., Suzuki S. et al. // *J. Pathol.* — 2005. — N 206. — P. 356-365.
200. Nathan, H. A proposed staging system for intrahepatic cholangiocarcinoma / Nathan H., Aloia T.A., Vauthey J.N. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2009. — N 16. — P. 14–22. 24.
201. Nathan, H. Trends in survival after surgery for cholangiocarcinoma: a 30-year population-based seer database analysis / Nathan H., Pawlik T.M., Wolfgang C.L. et al. // *J. Gastrointest. Surg.* — 2007. — N 11(11). — P. 1588-1496.
202. Nimura, Y. Preoperative biliary drainage before resection for cholangiocarcinoma (Pro) / Nimura Y. // *HPB (Oxford)*. — 2008. — N10(2). — P. 130–133.
203. Normanno, N. Role of molecular genetics in the clinical management of cholangiocarcinoma / Normanno N., Martinelli E., Melisi D. et al. // *ESMO Open*. — 2022. — Vol. 7(3). — 100505.
204. Ohtsuka, M. Results of surgical treatment for intrahepatic cholangiocarcinoma and clinicopathological factors influencing survival / Ohtsuka M., Ito H., Kimura F. et al. // *Br. J. Surg.* — 2002. — N 89. — P. 25-1531.
205. Oishi, N. Transcriptomic profiling reveals hepatic stem-like gene signatures and interplay of miR-200c and epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma / Oishi N., Kumar M.R., Roessler S. et al. // *Hepatology*. — 2012. — N 56. — P. 1792-1803.
206. Palmer, W.C. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma / Palmer W.C., Patel T. // *J. Hepatol.* — 2012. — N 57. — P. 69–76.
207. Palmieri, G. Multiple Molecular Pathways in Melanomagenesis: Characterization of Therapeutic Targets / Palmieri G., Ombra M., Colombino M. et al. // *Front. Oncol.* — 2015. — N 5. — P. 183.

208. Palomba, G. Prognostic impact of KRAS, NRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in primary colorectal carcinomas: A population-based study / Palomba G., Doneddu V., Cossu A. et al. // *J. Transl. Med.* — 2016. — N 14. — P.292.
209. Pan, X.P. MiR-370 functions as prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma / Pan X.P., Huang L.H., Wang X. // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* — 2017. — N 21(16). — P. 3581-3585.
210. Pant, S. A phase I dose escalation study of oral c-MET inhibitor tivantinib (ARQ 197) in combination with gemcitabine in patients with solid tumors / Pant S., Saleh M., Bendell J. et al. // *Ann. Oncol.* — 2014. — N 25(7). — P. 1416-1421.
211. Park, J. Inhibition of interleukin 6-mediated mitogen-activated protein kinase activation attenuates growth of a cholangiocarcinoma cell line / Park J., Tadlock L., Gores G.J., Patel T. // *Hepatology.* — 1999. — N 30. — P. 1128–1133.
212. Pascher, A. Intrahepatic cholangiocarcinoma: indication for transplantation / Pascher, A., Jonas, S., Neuhaus, P.J. // *Hepatobiliary Pancreat. Surg.* — 2003. —N 10. —P. 282–287.
213. Peregudova, M.V. The effectiveness of targeted therapy in a patient with BRAF-positive metastatic cholangiocarcinoma / Peregudova M.V., Zaretsky A.R., Breder V.V. et al. // *Experimental and clinical gastroenterology.* — 2017. — N 8(144). — P. 87-90.
214. Pignochino, Y. Targeting EGFR/HER2 pathways enhances the antiproliferative effect of gemcitabine in biliary tract and gallbladder carcinomas / Pignochino Y., Sarotto I., Peraldo-Neia C. et al. // *BMC Cancer.* — 2010. — N 10. — P.631.
215. Ponsioen, B. Quantifying single-cell ERK dynamics in colorectal cancer organoids reveals EGFR as an amplifier of oncogenic MAPK pathway signalling / Ponsioen, B., Post, J.B., Buissant des Amorie, J.R. et al. // *Nat Cell Biol.* — 2021. — N 23. — P. 377–390.
216. Primrose, J. N. Capecitabine compared with observation in resected biliary tract cancer (BILCAP): a randomised, controlled, multicentre, phase 3 study /

Primrose J. N., Fox R. P., Palmer D. H. et al. // *Lancet. Oncol.* — 2019. — N 20 (5). — P. 663 – 673.

217. Qiu, L.X. Predictive and prognostic value of KRAS mutations in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab: a meta-analysis of 22 studies / Qiu L.X., Mao C., Zhang J. et al. // *Eur. J. Cancer.* — 2010. — N 46(15). — P. 2781-2787.

218. Rahnemai-Azar, A.A. Intrahepatic cholangiocarcinoma: current management and emerging therapies / Rahnemai-Azar A.A., Weisbrod A.B., Dillhoff M. et al. // *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology.* — 2017. — N 11(5). — P. 439-449.

219. Rai, V. The promising role of epigenetic mediators and microRNA in the early diagnosis of cholangiocarcinoma (Review) / V.Rai, C.Boosani, D.Agrawal // *World Acad. Sci. J.* — 2019. — N 1. — P. 165-176.

220. Ramírez-Merino, N. Chemotherapy for cholangiocarcinoma: An update / Ramírez-Merino N., Aix S.P., Cortés-Funes H. et al. // *World. J. Gastrointest. Oncol.* — 2013. — N 5(7). — P. 171-176.

221. Ribero, D. Surgical approach for long-term survival of patients with intrahepatic cholangiocarcinoma: a multi institutional analysis of 434 patients / Ribero D., Pinna A.D., Guglielmi A. et al. // *Arch. Surg.* — 2012. — N147(12). — P. 1107-1113.

222. Rizvi, S. Cholangiocarcinoma — evolving concepts and therapeutic strategies / Rizvi S., Khan S.H., Hallemeier Ch. L. et al. // *Clinical. oncology.* — 2018. — N 15(2). — P. 95-111.

223. Rizvi, S. Pathogenesis, diagnosis, and management of cholangiocarcinoma / Rizvi S., Gores G.J. // *Gastroenterology.* — 2013. — N 145(6). — P. 1215-1229.

224. Robertson, S. The frequency of KRAS and BRAF mutations in intrahepatic cholangiocarcinomas and their correlation with clinical outcome / Robertson S., Hyder O., Dodson R. et al. // *Hum. Pathol.* — 2013. — N 44(12). — P. 2768-2773.

225. Rodríguez-Perálvarez, M. A systematic review of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma: diagnostic and prognostic variability / Rodríguez-Perálvarez

M., Luong T.V., Andreana L. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2013. — N 20. — P. 325-339.

226. Ruzzenente, A. Cholangiocarcinoma Heterogeneity Revealed by Multigene Mutational Profiling: Clinical and Prognostic Relevance in Surgically Resected Patients / A. Ruzzenente, M. Fassan, S. Conci et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2016. — V.23. — №5. — P.1699-1707.

227. Salati, M. IDH signaling pathway in cholangiocarcinoma: from biological rationale to therapeutic targeting / M.Salati, F.Caputo, C.Baldessari et al. // *Cancers(Basel)*. — 2020. — N 12(11). — P. 3310

228. Sapisochin, G. “Very early” intrahepatic cholangiocarcinoma in cirrhotic patients: should liver transplantation be reconsidered in these patients? / Sapisochin, G., Rodri’guez de Lope C. // *Gastaca M. Am. J. Transplant.* — 2014. — N 14. — P. 660–667.

229. Sapisochin, G. Intrahepatic cholangiocarcinoma or mixed hepatocellular-cholangiocarcinoma in patients undergoing liver transplantation: a Spanish matched cohort multicenter study / Sapisochin, G. et al. // *Ann. Surg.* —2014. —Vol. 259, — P. 944–952.

230. Sato, Y. Epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- $\beta$ 1/Snail activation aggravates invasive growth of cholangiocarcinoma / Sato Y., Harada K., Itatsu K. et al. // *Am. J. Pathol.* — 2010. — N 177. — P. 141-152.

231. Schadde, E. Systematic review and metaanalysis of feasibility, safety, and efficacy of a novel procedure: associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy / Schadde E., Schnitzbauer A.A., Tschuor C. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2015. — N 22 (9). — P. 3109–3120.

232. Schnitzbauer, A.A. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings / Schnitzbauer A.A., Lang S.A., Goessmann H. et al. // *Ann. Surg.* — 2012. — N 255(3). — P. 405-414.

233. Sekiya, S. Intrahepatic cholangiocarcinoma can arise from Notch-mediated conversion of hepatocytes / Sekiya S., Suzuki A. // *J. Clin. Invest.* — 2012. — N 122. — P. 3914–3918.

234. Shaib, Y. The epidemiology of cholangiocarcinoma / Shaib Y., El-Serag H.B. // *Semin. Liver. Dis.* — 2004. — N 24. — P. 115–125.

235. Shao, C. Histological classification of microvascular invasion to predict prognosis in intrahepatic cholangiocarcinoma / Shao C., Chen J., Shi J. et al. // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* — 2017. — N 10(7). — P. 7674-7681.

236. Shimada, K. Therapeutic value of lymph node dissection during hepatectomy in patients with intrahepatic cholangiocellular carcinoma with negative lymph node involvement / Shimada K., Sano T., Nara S. et al. // *Surgery.* — 2009. — N145(4). — P.411-416.

237. Shimizu, T. Effect of transforming growth factor- $\beta$ 1 on human intrahepatic cholangiocarcinoma cell growth / Shimizu, T.; Yokomuro, S.; Mizuguchi, Y. et al. // *World J. Gastroenterol.* — 2006. — N 12. — P. 6316–6324.

238. Shin, H.R. Epidemiology of cholangiocarcinoma: an update focusing on risk factors / Shin H.R., Oh J.K., Masuyer E. et al. // *Cancer. Sci.* — 2010. — N 101. — P. 579–558.

239. Shroff, R.T. Adjuvant Therapy for Resected Biliary Tract Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline / Shroff R.T., Kennedy E.B., Bachini M. et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2019. — N 37(12). — P. 1015-1027.

240. Sia, D. Integrative molecular analysis of intrahepatic cholangiocarcinoma reveals 2 classes that have different outcomes / Sia D., Hoshida Y., Villanueva A. et al. // *Gastroenterology.* — 2013. — N 144(4). — P. 829-840.

241. Sia, D. Intrahepatic cholangiocarcinoma: pathogenesis and rationale for molecular therapies / Sia D., Tovar V., Moeini A., Llovet J.M. // *Oncogene.* — 2013. — N 32(41). — P. 4861-4870.

242. Silkin, S. Complete Clinical Response of BRAF-Mutated Cholangiocarcinoma to Vemurafenib, Panitumumab, and Irinotecan / Silkin S.,

Startsev S., Krasnova M. et al. // *J. Gastrointest. Cancer.* — 2016. — N 47(4). — P. 502-505.

243. Silsirivanit, A. A novel serum carbohydrate marker on mucin 5AC: values for diagnostic and prognostic indicators for cholangiocarcinoma / Silsirivanit A., Araki N., Wongkham C. et al. // *Cancer.* — 2011. — N 117. — P. 3393-3403.

244. Simile, M.M. Targeted Therapies in Cholangiocarcinoma: Emerging Evidence from Clinical Trials / Simile, M.M.; Bagella, P.; Vidili, G. et al. // *Medicina.* — 2019. — N 55. — P. 42.

245. Simo, K.A. Multimodality treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma: A review / Simo K.A., Halpin L.E., McBrier N.M. et al. // *J. Surg. Oncol.* — 2016. — N 113. — P. 62-83.

246. Sirica A.E. The role of cancer-associated myofibroblasts in intrahepatic cholangiocarcinoma / Sirica A.E. // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* — 2012. — N 9. — P. 44–54.

247. Sirica, A. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy / Sirica A. // *Hepatology.* — 2005. — N 41 (1). — P. 5-15.

248. Sirica, A.E. Pathobiology of biliary epithelia and cholangiocarcinoma: proceedings of the Henry M and Lillian Stratton Basic Research Single-Topic Conference / Sirica A.E., Nathanson M.H., Gores G.J., Larusso N.F. // *Hepatology.* — 2008. — N 48. — P. 2040–2046.

249. Sirica, A.E. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma / Sirica A.E. // *World. J. Gastroenterol.* — 2008. — N 14(46). — P. 7033-7058.

250. Sithithaworn, P. Roles of liver fluke infection as risk factor for cholangiocarcinoma / P. Sithithaworn, Yongvanit P., Duengai K. et al. // *J. Hepatobiliary Pancreat Sci.* — 2014. — N 21. — P. 301–308.

251. Sookprasert, A. Systemic therapy for locally advanced and metastatic cholangiocarcinoma / Sookprasert A., Chindaprasert J., Wirasorn K. // *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* — 2012. — N 13. — P.3-6. PMID: 23480748.

252. Soria, J.C. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer / Soria J.C., Ohe Y., Vansteenkiste J. et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2018. — N 378. — P. 113-125.

253. Spolverato, G. The Impact of Surgical Margin Status on Long-Term Outcome After Resection for Intrahepatic Cholangiocarcinoma / Spolverato G., Yakoob M.Y., Kim Y. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2015. — N 22(12). — P. 4020-4028.

254. Spolverato, G. Tumor size predicts vascular invasion and histologic grade among patients undergoing resection of intrahepatic cholangiocarcinoma / Spolverato G., Ejaz A., Kim Y. et al. // *J. Gastrointest. Surg.* — 2014. — N 18. — P. 1284–1291.

255. Subbiah, V. Dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF<sup>V600E</sup>-mutated biliary tract cancer (ROAR): a phase 2, open-label, single-arm, multicentre basket trial / Subbiah V., Lassen U., Élez E. et al. // *Lancet Oncol.* — 2020. — N 21(9). — P. 1234-1243.

256. Subrungruanga, I. Gene expression profiling of intrahepatic cholangiocarcinoma / Subrungruanga I., Thawornkunob C., Chawalitchewinkoon-Petmitrc P. et al. // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* — 2013. — N 14. — P. 557-563.

257. Suthar, M. Role of MRCP in differentiation of benign and malignant causes of biliary obstruction / Suthar M., Purohit S., Bhargav V., Goyal P. // *J. Clin. Diagn. Res.* — 2015. — N 9(11). — P. 8-12.

258. Suzuki, H. Relationship between 18-F-fluorodeoxy- D-glucose uptake and expression of glucose transporter 1 and pyruvate kinase M2 in intrahepatic cholangiocarcinoma / Suzuki H., Komuta M., Bolog A. // *Dig. Liver Dis.* — 2015. — N 47. — P. 590-596.

259. Tabrizian, P. Outcomes following resection of intrahepatic cholangiocarcinoma / Tabrizian P., Jibara G., Hechtman J.F. et al. // *HPB.* — 2015. — N 17. — P. 344–351.

260. Tang, H. Influence of surgical margins on overall survival after resection of intrahepatic cholangiocarcinoma: A meta-analysis / Tang H., Lu W., Li B. et al. // *Medicine (Baltimore)*.

261. Tao, L.Y. Comparison of serum tumor markers for intrahepatic cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma / Tao L.Y., Cai L., He X.D. et al. // *Am. Surg.* — 2010. — N 76. — P. 1210-1213.
262. Thiery, J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease / Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y. et al. // *Cell.* — 2009. — N 139. — P. 871-890.
263. Tiong, L. Systematic review and meta-analysis of survival and disease recurrence after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma / Tiong L., Maddern G.J. // *Br. J. Surg.* — 2011. — N 98. — P. 1210-1224.
264. Torkamani, A. Identification of rare cancer driver mutations by network reconstruction / Torkamani A., Schork N.J. // *Genome Res.* — 2009. — N 19. — P. 1570–1577.
265. Tsokos, C. Telomerase reverse transcriptase promoter mutations (mTERTp) in combined hepatocellular(HCC)-cholangiocarcinoma(CC; CHCC-CC) support clonal and HCC-like origin for both components / C. Tsokos, X. Liu, D.Solomon // *Lab Invest.* — 2015. — V.95. — abstr 1697.— 425A.
266. Tsunematsu, M. Radical resection of an initially unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma after chemotherapy with using gemcitabine, cisplatin, and S-1: report of a case / Tsunematsu M., Haruki K., Sakamoto T. et al. // *Surg. Case. Rep.* — 2019. — N 5(1). — P. 103.
267. Tyson, G.L. Risk factors for cholangiocarcinoma / Tyson G.L., El-Serag H.B. // *Hepatology.* — 2011. — N 54. — P. 173-184.
268. Uenishi, T. Indications for surgical treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma with lymph node metastases / Uenishi T., Kubo S., Yamazaki O. et al. // *J. hepato-biliary-pancreatic Surg.* — 2008. — N 15. — P. 417-422.
269. Uhm, K.O. Aberrant promoter CpG islands methylation of tumor suppressor genes in cholangiocarcinoma / Uhm K.O., Lee E.S., Lee Y.M. et al. // *Oncol. Res.* — 2008. — N 17. — P. 151–157.
270. Valle, J. ABC-02 Trial Investigators. Cisplatin plus gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer / Valle J., Wasan H., Palmer D.H. et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2010. — N 362(14). — P. 1273–1281.

271. Van de Putte, G. E-cadherin and catenins in early squamous cervical carcinoma / G. Van de Putte, G.B. Kristensen, M. Baekelandt et al. // *Gynecol Oncol.* — 2004. — Vol.94. — №2. — P.521-527.

272. van Lienden, K.P. Portal vein embolization before liver resection: a systematic review / van Lienden K.P., van den Esschert J.W., de Graaf W. et al. // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* — 2013. — N 36(1). — P. 25–34.

273. van Vugt, J.L.A. The prognostic value of portal vein and hepatic artery involvement in patients with perihilar cholangiocarcinoma / van Vugt J.L.A., Gaspersz M.P., Coelen R.J.S. et al. // *HPB (Oxford)*. — 2018. — N 20(1). — P. 83-92.

274. Vaquero, J. Epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma: From clinical evidence to regulatory networks / Vaquero, J.; Guedj, N.; Clapéron, A. et al. // *J. Hepatol.* — 2017. — N 66. — P. 424–441.

275. Vilana, R. Intrahepatic peripheral cholangiocarcinoma in cirrhosis patients may display a vascular pattern similar to hepatocellular carcinoma on contrast-enhanced ultrasound / Vilana R., Forner A., Bianchi L. et al. // *Hepatology*. — 2010. — N 51. — P. 2020–2029.

276. Viterbo, D. Diagnostic and therapeutic biomarkers in pancreaticobiliary malignancy / Viterbo D., Gausman V., Gonda T. // *World J. Gastrointest. Endosc.* — 2016. — N 8. — P. 128-142.

277. Vogl, T.J. Hepatic intraarterial chemotherapy with gemcitabine in patients with unresectable cholangiocarcinomas and liver metastases of pancreatic cancer: a clinical study on maximum tolerable dose and treatment efficacy / Vogl T.J., Schwarz W., Eichler K. et al. // *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* — 2006. — N 132. — P. 745–755.

278. Wachsmann, M. Isocitrate dehydrogenase gene mutations in cholangiocarcinoma / M. Wachsmann, D. Pinho, R. Ram // *Lab. Invest.* — 2017. — V.97. — P. 452A-3A.

279. Waisberg, D.R. Resection for intrahepatic cholangiocellular cancer: new advances / Waisberg D.R., Pinheiro R.S., Nacif L.S. et al. // *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* — 2018. — N 3. — P. 60.

280. Walter, D. Update on cholangiocarcinoma: Potential impact of genomic studies on clinical management / Walter D., Hartmann S., Waidmann O. // *Z. Gastroenterol.* — 2017. — N 55. — P.575–581.

281. Wang, J.J. Preoperative gammaglutamyltransferase to lymphocyte ratio predicts long-term outcomes in intrahepatic cholangiocarcinoma patients following hepatic resection / Wang J.J., Li H., Li J.X. et al. // *World. J. Gastroenterol.* — 2020. — N 26(13). — P. 1501-1512.

282. Wang, K. Surgical options for intrahepatic cholangiocarcinoma / Wang K., Zhang H., Xia Y. et al. // *Hepatobiliary Surg. Nutr.* — 2017. — N 6(2). — P. 79-90.

283. Wang, S.C. Amplification and overexpression of the MET gene in intrahepatic cholangiocarcinoma correlate with adverse pathological features and worse clinical outcome / Wang S.C., Wu Y.T., Lui T.T. et al. // *Int. J. Clin. Exp.* — 2017. — N 10(6). — P. 6809-6817.

284. Wang, Sh.-Ch. Amplification and overexpression of the MET gene in intrahepatic cholangiocarcinoma correlate with adverse pathological features and worse clinical outcome / Wang Sh.-Ch., Wu Y.-T., Lui T.-T. et al. // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* — 2017. — N 10(6). — P. 6809-6817.

285. Wang, Zh. Prognostic values of prevalent gene mutations in intrahepatic cholangiocarcinoma / Wang Zh., Wang X.-Y., Li J.-H., Zhu W.-W. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* — 2016. — N9(10). — P. 18989-19001.

286. Wang, P. Mutations in isocitrate dehydrogenase 1 and 2 occur frequently in intrahepatic cholangiocarcinomas and share hypermethylation targets with glioblastomas / Wang P., Dong Q., Zhang C. et al. // *Oncogene.* — 2013. — N 32(25). — P. 3091-3100.

287. Weber, S.M. Intrahepatic Cholangiocarcinoma: expert consensus statement. 2015 International Hepato-Pancreato-Biliary Association / Weber S.M., Ribero D., Reilly E.M. O. et al. // *HPB.* — 2011. — N17. — P. 669–680

288. Wei, T. Prognostic impact of perineural invasion in intrahepatic cholangiocarcinoma: multicenter study / T. Wei, X-F. Zhang, j.He et al. // *British Journal of Surgery.* — 2022— Vol. 109. — I. 7. — P. 610-616.

289. Weinberg, B.A. Molecular profiling of biliary cancers reveals distinct molecular alterations and potential therapeutic targets / Weinberg B.A., Xiu J., Lindberg M.R. et al. // *J. Gastrointest Oncology*. — 2019. — N 10(4). — P. 652-662.

290. Wiggers, J.K. Postoperative mortality after liver resection for perihilar cholangiocarcinoma: development of a risk score and importance of biliary drainage of the future liver remnant / Wiggers J.K., Groot Koerkamp B., Cieslak K.P. et al. // *J. Am. Coll. Surg.* — 2016. — N 223(2). — P. 321–331.

291. Winter, H. Identification of Circulating Genomic and Metabolic Biomarkers in Intrahepatic Cholangiocarcinoma / H. Winter, P.J. Kaisaki, J. Harvey et al. // *Cancers*. — 2019. — V. 11. — №12. — P. 1895.

292. Wiwanitkit, V. Pesticides, fresh water fish, liver flukes and nitrosamines: a story of cholangiocarcinoma development in Thailand / Wiwanitkit V. // *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* — 2009. — N 10. — P. 961–962.

293. Xie, D. Genetic profiling of intrahepatic cholangiocarcinoma and its clinical implication in targeted therapy / Xie D., Ren Z., Fan J., Gao Q. // *Am. J. Cancer. Res.* — 2016. — N 15. — I. 6(3). — 577-586.

294. Xu, H.X. Percutaneous ultrasound-guided thermal ablation for intrahepatic cholangiocarcinoma / Xu H.X., Wang Y., Lu M.D., Liu L.N. // *Br. J. Radiol.* — 2012. — N 85. — P.1078-1084.

295. Xu, R.F. KRAS and PIK3CA but not BRAF genes are frequently mutated in Chinese cholangiocarcinoma patients / Xu R.F., Sun J.P., Zhang S.R. et al. // *Biomed. Pharmacother.* — 2011. — N 65(1) — P. 22-26.

296. Yang, J. Current status of intrahepatic cholangiocarcinoma / Yang J., Yan L.N. // *World J. Gastroenterol.* — 2008. — N 14 (41). — P. 6289–6297.

297. Yoshida, R. A Case of Unresectable Intrahepatic Cholangiocarcinoma Successfully Treated with Chemoradiotherapy. *Gan to Kagaku Ryoho* / R. Yoshida, K. Suemori, N. Iga et al. // *Cancer & Chemotherapy*. — 2020. — N 47 (13). — P. 2126-2128.

298. Yoshikawa, D. Clinicopathological and prognostic significance of EGFR, VEGF, and HER2 expression in cholangiocarcinoma / Yoshikawa D., Ojima H., Iwasaki M. et al. // *Br. J. Cancer.* — 2008. — N 98. — P. 418-425.

299. Yuan, C. Development and validation a nomogram for predicting overall survival in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma / Yuan C., Hu Z., Wang K., Zou S. // *Front Surg.* — 2021. — N 8:659422.

300. Yuan, L. Liver resection for intrahepatic cholangiocarcinoma in AJCC stage: an evaluation of the survival benefit and prognostic accuracy of current AJCC staging system on N and M classification / Yuan L., Luo X., Lu X. et al. // *Oncol. Rep.* — 2016. — N 36. — P. 2663–2672.

301. Zen, Y. Different expression patterns of mucin core proteins and cytokeratins during intrahepatic cholangiocarcinogenesis from biliary intraepithelial neoplasia and intraductal papillary neoplasm of the bile duct--an immunohistochemical study of 110 cases of hepatolithiasis / Zen Y., Sasaki M., Fujii T. et al. // *J. Hepatol.* — 2006. — N. 44(2). — P. 350-358.

302. Zender, S.A. critical role for notch signaling in the formation of cholangiocellular carcinomas / Zender S., Nickenleit I., Wuestefeld T. et al. // *Cancer Cell.* — 2013. — N 23. — P. 784–795.

303. Zhang, C. Up-regulation of 14-3-3z expression in intrahepatic cholangiocarcinoma and its clinical implications / Zhang C., Liu L.X., Dong Z.R. et al. // *Tumour Biol.* — 2015. — N 36. — P. 1781-1789.

304. Zhang, R. Comprehensive analysis of genomic mutation signature and tumor mutation burden for prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma / Zhang, R., Li, Q., Fu, J. et al. // *BMC Cancer.* — 2021. — N 21. — P. 112.

305. Zhang, S.J. Thermal ablation versus repeated hepatic resection for recurrent intrahepatic cholangiocarcinoma / Zhang S.J., Hu P., Wang N. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2013. — N 20. — P. 3596-3602.

306. Zhang, W. Systemic treatment of advanced or recurrent biliary tract cancer / Zhang W., Zhou H., Wang Y. et al. // *Biosci. Trends.* — 2020. — N 14(5). — P. 328-341.

307. Zhang, Z. Perineural invasion as a prognostic factor for intrahepatic cholangiocarcinoma after curative resection and potential indication for postoperative chemotherapy: a retrospective cohort study / Z. Zhang, Y. Zhou, K. HU et al. // *BMC Cancer*. — 2020. — N 20. — P. 270.

308. Zhang, Z. Preclinical assessment of simultaneous targeting of epidermal growth factor receptor (ErbB1) and ErbB2 as a strategy for cholangiocarcinoma therapy / Zhang Z., Oyesanya R.A., Campbell D.J. et al. // *Hepatology*. — 2010. — N 52(3). — P. 975-986.

309. Zhou, S.L. Association of KRAS variant subtypes with survival and recurrence in patients with surgically treated intrahepatic cholangiocarcinoma / Zhou S.L., Xin H.Y., Sun R.Q. et al. // *JAMA Surg*. — 2022. — N 157(1). — P. 59-65.

310. Zhou, Y. Survival after surgical resection of distal cholangiocarcinoma: a systemic review and meta-analysis of prognostic factors / Y. Zhou, S. Liu, L.Wan // *Asian J. Surg*. — 2017. — N 40(2). — P. 129-138.

311. Zou, S. Mutational landscape of intrahepatic cholangiocarcinoma / Zou S., Li J., Zhou H. et al. // *Nat. Commun*. — 2014. — N 5. — P. 5696.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1. Распространенность мутаций генов *IDH1/2* у пациентов ВПХЦР в различных странах

Исследование	Страна	IDH1/2, %
Churi, 2014 [66]	США	18
Boscoe, 2019 [42]	США	13
Lee, 2020 [163]	Китай	9,3
Akita, 2017 [22]	Япония	8,5
Borger, 2012 [41]	США Китай	35,5 10,5
Doherty, 2016 [77]	Канада	9,5
Fujimoto, 2015 [91]	Япония	6,9
Hess, 2015 [110]	Европа	7,9

### Приложение 2. Распространенность мутаций генов *KRAS* у пациентов ВПХЦР в различных странах

Исследование	Страна	IDH1/2, %
Churi [66]	США	18
Robertson, 2013 [214]	США	7,4
Zhou, 2022 [311]	Китай	12,5
Walter, 2017[280]	Германия	9,5
Huang, 2017 [120]	Тайвань	7,6

### Приложение 3. Отдаленные результаты лечения ВПХЦР с применением РЧА

Автор	Страна	Год	N, количество больных	Размер опухоли (см)	Показания	Доступ	Выживаемость, (%)		
							1 - летняя	3-х летняя	5-ти летняя
Chiou и соавт. <sup>10</sup>	Тайвань	2005	10	1.9–6.8	Нерезектабельный ВПХЦР	Чрескожная РЧА	-	-	-
Carrafiello и соавт. <sup>11</sup>	Италия	2010	6	1.0–5.8	Нерезектабельный ВПХЦР	Чрескожная РЧА	-	-	-
Kamphues и соавт. <sup>12</sup>	Германия	2010	13	-	Рецидив ВПХЦР	Стереотаксическая РЧА	92	52	-
Kim и соавт. <sup>13</sup>	Корея	2011	13	0.8–8.0	Нерезектабельный ВПХЦР	Чрескожная РЧА	85	51	15
Giorgio и соавт. <sup>14</sup>	Италия	2011	10	2.4–5.5	Нерезектабельный ВПХЦР	Чрескожная РЧА	100	83	83
Kim и соавт. <sup>15</sup>	Корея	2011	20	0.7–4.4	Рецидив ВПХЦР	Чрескожная РЧА	70	21	-
Yu и соавт. <sup>16</sup>	Китай	2011	15	1.3–9.9	Нерезектабельный ВПХЦР	Чрескожная микроволновая	60	-	-
Xu и соавт. <sup>17</sup>	Китай	2012	18	1.4–6.9	Нерезектабельный ВПХЦР /Рецидив ВПХЦР	Чрескожная РЧА	36	30	30
Fu и соавт. <sup>18</sup>	Китай	2012	17	2.1–6.8	Нерезектабельный ВПХЦР /Рецидив ВПХЦР	Чрескожная РЧА	85	43	29
Haidu и соавт. <sup>19</sup>	Австрия	2012	11	2.0–10.0	Нерезектабельный ВПХЦР /Рецидив ВПХЦР	Стереотаксическая РЧА	91	71	-
Zhang и соавт. <sup>20</sup>	Китай	2013	77	-	Рецидив ВПХЦР	Чрескожная РЧА	70	21	-
Butros и соавт. <sup>5</sup>	США	2014	7	1.3–3.3	Нерезектабельный ВПХЦР /Рецидив ВПХЦР	Чрескожная РЧА	100	60	20

**Приложение 4.** Классификации внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака по системе TNM Международного противоракового союза AJCC / UICC (8 редакция).

T — первичная опухоль

Tx — недостаточно данных для оценки первичной опухоли,

T0 — первичная опухоль не определяется,

Tis — рак in situ (внутрипротоковая опухоль);

T1 — солитарная опухоль без инвазии сосудов, <5 см или >5 см,

T1a — солитарная опухоль <5 см без инвазии сосудов,

T1b — солитарная опухоль >5 см без инвазии сосудов,

T2 — солитарная опухоль с внутрипеченочной инвазией сосудов или множественные опухолевые узлы в сочетании или без инвазии сосудов;

T3 — опухоль, прорастающая висцеральную брюшину;

T4 — опухоль, вовлекающая местные структуры путем прямой инвазии.

N — регионарные лимфатические узлы

Nx — недостаточно данных для оценки состояния регионарных лимфатических узлов,

N0 — нет признаков метастатического поражения регионарных лимфатических узлов,

N1 — имеется поражение регионарных лимфатических узлов метастазами.

M — отдаленные метастазы

M0 — нет признаков отдаленных метастазов;

M1 — имеются отдаленные метастазы.

Таблица 2. Группировка по стадиям рака внутрипеченочных желчных протоков

Стадия	T	N	M
0	Tis	0	0
IA	1a	0	0
IB	1b		
II	2	0	0
IIIA	3	0	0
IIIB	4	0	0
IV	Любая	Любая	1

**Приложение 5. Классификация хирургических (послеоперационных) осложнений по Clavien-Dindo**

Степень тяжести	Характеристика осложнений
Степень I	Любые отклонения от нормального течения послеоперационного периода, не требующие медикаментозного лечения или хирургического, эндоскопического, радиологического вмешательства. Разрешается консервативная терапия следующими препаратами: антипиретики, анальгетики, диуретики, электролиты, физиотерапия. Эта степень также включает нагноение послеоперационной раны
Степень II	Требуется медикаментозное лечение препаратами, помимо перечисленным для I класса, а также переливание компонентов крови, проведение энтерального и парентерального питания
Степень III	Показано выполнение хирургического, эндоскопического, радиологического вмешательства
Степень IIIa	Без общей анестезии
Степень IIIb	Под общей анестезией
Степень IV	Жизнеугрожающие осложнения (включая осложнения со стороны ЦНС), требующие интенсивной терапии в условиях реанимации
Степень IVa	Дисфункция одного органа (включая гемодиализ)
Степень IVb	Полиорганная недостаточность
Степень V	Смерть больного
Индекс «D»	Наличие осложнения при выписке, требующего динамического наблюдения

**Приложение 6.** Пятилетняя выживаемость после хирургического лечения внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака по данным разных авторов

Автор	Год	Число обследованных, n	R0, %	5-летняя выживаемость,%
DeOliveira M.L. <i>et al.</i> . [75]	2007	44	45	40
Choi S.B. <i>et al.</i> [64]	2009	64	86	40
[155] Lang H. <i>et al.</i>	2009	83	64	21
[195] Murakami Y. <i>et al.</i>	2011	21	62	37
[72] de Jong M.C. <i>et al.</i> .	2011	449	81	31
[221] Ribero D. <i>et al.</i>	2012	434	85	33
[78] Doussot A. <i>et al.</i>	2015	188	-	59
[259] Tabrizian P. <i>et al.</i>	2015	82	-	25
[15] Патютко Ю.И. и соавт.	2015	95	-	25
НМИЦ Хирургии им. А.В. Вишневского	2021	67	31	39