ĐẶC ĐIỂM CẬN LÂM SÀNG, MÔ BỆNH HỌC VÀ SỰ BỘC LỘ MỘT SỐ DẤU ẤN HÓA MÔ MIỄN DỊCH CỦA UNG THƯ ĐƯỜNG MẬT TRONG GAN

Đồng Đức Hoàng[1], Ngô Thị Minh Hạnh[2]

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả đặc điểm cận lâm sàng, mô bệnh học và hóa mô miễn dịch ung thư đường mật (UTĐM) trong gan. ***Đối tượng và phương pháp:*** Nghiên cứu mô tả và hồi cứu trên 52 bệnh nhân (BN) chẩn đoán UTĐM bằng kết quả mô bệnh học và hóa mô miễn dịch. ***Kết quả:*** Nghiên cứu bao gồm 59,6% nam giới, tuổi trung bình là 60,9 ± 10,3. Tỷ lệ CA 19-9 tăng 63,5%, CEA tăng 44,2%. Kích thước u trung bình là 6,7 ± 3,5 cm. U di căn hạch chiếm 32,7%, di căn xương 11,5%. TNM (Tumour - Nodes - Metastasis) giai đoạn II và IV đều là 32,7%. Thể mô bệnh học của UTĐM trong gan chủ yếu là tuyến biệt hóa cao chiếm tỷ lệ cao nhất với 40,4%. Dấu ấn CK7 dương tính ở 100% BN. CK19 dương tính chiếm 94,2%. Tỷ lệ dương tính thấp ở dấu ấn CK20, CDX2, P40. ***Kết luận:*** Nhuộm đồng thời nhiều dấu ấn hóa mô miễn dịch hiện nay rất hữu ích để chẩn đoán chính xác bệnh UTĐM trong gan.

* Từ khóa: Ung thư đường mật trong gan; Mô bệnh học; Hóa mô miễn dịch.

Subclinical, Histopathological and Immunohistochemical Characteristics of Intrahepatic Cholangiocarcinoma

Summary

Objectives: *To describe subclinical manifestations, histopathological and immunohistochemical characteristics of intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCA) patients.* ***Subjects and methods:*** *A descriptive, retrospective study was conducted on 52 iCCA patients. Diagnosis of iCCA was made based on histological assessment of liver biopsy specimen.* ***Results:*** *Among 52 patients (male 59.6%), mean age 60.9 ± 10.3. Regarding immunological tests, increased CA 19-9 was 63.5%, increased CEA was 44.2%. On abdominal CT scan, the mean tumor diameter was 6.7 ± 3.5 cm. Organ metastases included lymph node 32.7%, bone metastases 11.5%. TNM stage II and IV were 32.7%. The histopathological type of iCCA was mainly well-differentiated adenocarcinoma, accounting for the highest proportion with 40.4%. CK7 was positive in 100% of patients. CK19 was simultaneously positive with CK7 in 94.2% of patients. A low positive rate was found in markers CK20, CDX2, P40.* ***Conclusions:*** *Simultaneous staining of multiple immunohistochemical markers is now very useful to accurately diagnose iCCA.*

****** Keyword: Intrahepatic Cholangiocarcinoma, Histopathological iCCA, Immunohistochemical iCCA.*

[1]*Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên*

[2]*Bệnh viện Trung ương Quân đội 108*

Người phản hồi: Đồng Đức Hoàng (Drhoang85@gmail.com)

Ngày nhận bài: 14/6/2021

Ngày được chấp nhận đăng: 5/7/2021

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đường mật là bệnh được chẩn đoán phổ biến thứ năm và là nguyên nhân thường xuyên thứ hai gây tử vong liên quan đến ung thư ở nam giới trên toàn thế giới. Tỷ lệ mắc UTĐM cao nhất gặp ở Đông Nam Á và thấp nhất ở Úc. Trong khu vực Đông Nam Á, tỷ lệ mắc hàng năm của nó dao động từ 0,1/100.000 đến 71,3/100.000 [3].

Ung thư đường mật là một khối u ác tính phát sinh từ biểu mô đường mật ở bất kỳ phần nào của hệ thống ống mật. UTĐM gồm có u trong gan và ngoài gan. UTĐM trong gan là tổn thương từ trên 2 cm tính từ ngã ba đường mật (tạo bởi ống gan trái, ống gan phải và ống gan chung) tới tiểu quản mật. UTĐM ngoài gan là u vùng rốn gan (u Klatskin, nằm trong 2 cm thuộc ống gan phải, trái tính từ ngã ba đường mật đến đoạn ống túi mật đổ vào ống gan chung) và u đường mật ngoài gan là phần còn lại [1]. UTĐM trong gan chiếm 5 - 10% tổng số các trường hợp UTĐM; u Klatskin từ 60 - 70% và UTĐM ngoài gan chiếm 15 - 20% [2]. UTĐM ngoài gan thường được chẩn đoán sớm hơn do có triệu chứng tắc mật, còn UTĐM trong gan thường diễn biến âm thầm, ít triệu chứng đặc hiệu. Bệnh còn gây nhiều khó khăn cho bác sĩ trong chẩn đoán phân biệt với ung thư biểu mô tế bào gan (UTBG) và các khối u di căn đến gan [4]. Hiện nay, UTĐM trong gan là một bệnh ít được đề cập đến trong y văn tại Việt Nam, chẩn đoán và điều trị tại các tuyến cơ sở còn nhiều lúng túng. Nắm được các phương pháp để chẩn đoán xác định bệnh từ đó đề ra kế hoạch điều trị là rất quan trọng. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu là: *Mô tả đặc điểm cận lâm sàng, mô bệnh học và hóa mô miễn dịch UTĐM trong gan.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

52 BN UTĐM trong gan chẩn đoán tại Bệnh viện Trung ương Quân đội (BVTƯQĐ) 108 từ 01/2020 - 6/2021.

** Tiêu chuẩn lựa chọn:* BN được chẩn đoán UTĐM trong gan bằng kết quả mô bệnh học và hóa mô miễn dịch [5].

** Tiêu chuẩn loại trừ:* BN có ung thư biểu mô tế bào gan kết hợp, UTĐM di căn từ cơ quan khác, dị ứng thuốc cản quang, không sinh thiết được, không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu:* Mô tả, hồi cứu.

** Phương pháp chọn mẫu:*

- Chọn mẫu có chủ đích. Cỡ mẫu 52 BN đủ tiêu chuẩn nghiên cứu.

** Các bước tiến hành và chỉ tiêu nghiên cứu:*

- Hỏi thông tin nhân khẩu học, khám thấy có triệu chứng của UTĐM.

- Các BN được làm các xét nghiệm công thức máu và đông máu bằng máy Cell Dyn 3700 (Abbot) tại Khoa Huyết học. Xét nghiệm sinh hóa (creatinin, bilirubin toàn phần, AST, ALT, GGT, albumin) bằng máy Olympus Au 640 tại Khoa Sinh hóa. Xét nghiệm CA 19-9, CEA bằng phương pháp ELISA, thực hiện tại Khoa Miễn dịch. Chụp CT ổ bụng đánh giá vị trí,

số lượng, kích thước u và tình trạng di căn bằng máy Brivo CT385. Chụp xạ hình xương toàn thân (Whole Body Scan) 3 giờ sau tiêm tĩnh mạch 15 mCi Tc99m-MDP bằng hệ thống GE Medical System để đánh giá di căn xương. Nội soi dạ dày, đại tràng bằng máy Olympus, nếu có di căn đến ống tiêu hóa sẽ tiến hành nội soi sinh thiết làm xét nghiệm mô bệnh học để chẩn đoán.

- Sinh thiết khối u trong gan theo quy trình: Gây tê ngoài da bằng lidocain 2%, dùng súng Fustgun, dưới hướng dẫn của máy siêu âm Logiq S7, chọc kim 16 Gauge vào khối u lấy bệnh phẩm dài khoảng 1 cm, đường kính 1 mm, cố định bằng dung dịch formol 10%, bệnh phẩm được xử lý mô bệnh học trên máy tự động Sakura, được đúc khối paraffin, cắt nhuộm Hematoxylin-Eosin. Đánh giá mô bệnh học theo các thể bệnh của WHO 2019.

- Giai đoạn TNM phân loại theo AJCC 2010 (American Joint Committee on Cancer).

- Nhuộm hóa mô miễn dịch theo quy trình: Bệnh phẩm được cắt từ chính khối nến đã được cắt nhuộm HE trước đó trên máy hóa mô tự động Benchmark Ultra của Ventana (Roche) với các dấu ấn miễn dịch. Trong mỗi lần nhuộm đều có tiêu bản chứng âm và chứng dương. Nhuộm hóa mô miễn dịch các dấu ấn CK7, P40, CK19, CK20, CDX2, Hep par-1, AFP, TTF1, CEA, PSA, CA125, WT1, Napsin A, CD34 với chất chỉ thị màu. Đánh giá dương tính khi biểu hiện màu vàng nâu ở bào tương và màng bào tương hay nhân tế bào.

** Xử lý số liệu:* Bằng phần mềm thống kê y học SPSS 22.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Bảng 1: Tuổi, giới tính và yếu tố nguy cơ.

Đặc điểm	n	%
Tuổi (nhỏ nhất, lớn nhất: 39 - 84)	60,9 ± 10,3	
Nam	31	59,6
Nguyên nhân		
Không rõ	28	53,8
Sỏi mật	2	3,8
Xơ gan	3	5,8
HBV	11	21,2
HCV	1	1,9
Đái tháo đường	5	9,6

Nghiên cứu cho thấy tuổi trung bình của đối tượng là khá cao 60,9 ± 10,3. Nam giới chiếm tỷ lệ lớn hơn với 59,6%. Yếu tố nguy cơ gây bệnh thường gặp nhất là viêm gan B (21,2%).

Bảng 2: Kết quả xét nghiệm máu.

Chỉ tiêu	n
WBC (G/l)	9,7 ± 4,0
Neutrophil (%)	65,7 ± 10,2
RBC (T/l)	4,4 ± 0,5
PLT (G/l)	287,4 ± 103,8
Creatinin (µmol/l)	75,1 ± 53,5
Bilirubin TP (µmol/l)	16,8 ± 23,2
AST (IU/l)	59,8 ± 60,3
ALT (IU/l)	51,8 ± 63,0
GGT (IU/l)	284,4 ± 365,8
Albumin (g/l)	40,2 ± 4,5
CA 19-9 (IU/ml) Tăng CA 19-9 (> 129)	670,7 ± 596,6 33 (63,5%)
CEA (ng/ml) Tăng CEA (> 5)	76,7 ± 247,5 23 (44,2%)

Bệnh nhân chỉ đi khám khi có triệu chứng như đau bụng, sau khi làm xét nghiệm thường quy thì hầu như các chỉ số đều không thấy bất thường, chỉ thấy men AST, ALT tăng nhẹ, men GGT tăng cao. CA 19-9 là dấu ấn có tác dụng định hướng chẩn đoán UTĐM tốt nhất nhưng trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ thấy tăng ở 63,5%. Xét nghiệm CEA đồng thời với CA 19-9 cũng làm tăng độ đặc hiệu trong chẩn đoán UTĐM. Trong nghiên cứu này chúng tôi thấy số BN tăng CEA chiếm 44,2%.

Bảng 3: Kết quả chụp cắt lớp vi tính ổ bụng và xạ hình xương.

Chỉ tiêu	n	%
Kích thước (cm) Nhỏ nhất, lớn nhất: 1,3 - 13,6	6,7 ± 3,5	
Vị trí		
Thùy phải	21	40,4
Thùy trái	10	19,2
Hai thùy	21	40,4
Số lượng		
Một	23	44,2
Một có vệ tinh	10	19,2
Hai	4	7,7
Nhiều	15	28,8
Di căn hạch	17	32,7
Di căn tĩnh mạch cửa	4	7,7
Di căn xa		
Phổi	4	7,7
Xương	6	11,5
Phúc mạc	1	1,9
Tụy	1	1,9

Chính những hạn chế của xét nghiệm khiến cho BN phải chỉ định thêm các phương pháp chẩn đoán hình ảnh để trợ giúp chẩn đoán. Chụp cắt lớp vi tính ổ bụng có tiêm thuốc cản quang nhằm đánh giá tổn thương qua 4 thì là phương pháp thường được áp dụng tại BVTƯQĐ 108, vì đây là phương pháp có chi phí không quá đắt và chẩn đoán tốt với các trường hợp có hình ảnh UTĐM điển hình; ngoài ra, còn có thể chẩn đoán được di căn từ khối u vào hạch, tình trạng huyết khối tĩnh mạch và tình trạng di căn tế bào ác tính vào các cơ quan trong cơ thể BN. Hình ảnh UTĐM điển hình trên hình ảnh CT scan ổ bụng là giảm âm thì trước tiêm, ngấm thuốc mạnh thì động mạch, không thải thuốc thì tĩnh mạch cửa và thì muộn. Khi trên hình ảnh CT scan thấy có tổn thương ở xương, chúng tôi cho BN chụp xạ hình xương xác định được tỷ lệ di căn là 11,5%. Những BN có hình ảnh dày thành ống tiêu hóa đã được tiến hành nội soi và sinh thiết phát hiện được 7,7% có di căn dạ dày. Ngoài ra, trên hình ảnh CT scan còn thấy tình trạng di căn đến phổi, phúc mạc và tụy. Chính vì có tình trạng di căn đến nhiều cơ quan nên chúng tôi cần nhuộm các dấu ấn hóa mô đặc hiệu của các cơ quan này để khẳng định chẩn đoán.

Bảng 4: Phân bố giai đoạn bệnh theo hệ thống TNM.

Giai đoạn	n	%
Giai đoạn I	13	25,0
Giai đoạn II	17	32,7
Giai đoạn III	5	9,6
Giai đoạn IV	17	32,7

Phân loại theo TNM thì thấy u ở giai đoạn II và IV có tỷ lệ lớn hơn và cùng là 32,7%. U ở giai đoạn III chiếm tỷ lệ thấp nhất (9,6%).

Bảng 5: Đặc điểm mô bệnh học.

Thể mô bệnh học	n	%
Tuyến biệt hóa cao	21	40,4
Tuyến biệt hóa vừa	6	11,5
Tuyến biệt hóa kém	14	26,9
Tuyến không biệt hóa	5	9,6
Thể đặc giống tế bào gan	6	11,5
Xơ		
Không xơ	5	9,6
Xơ ít	15	28,8
Xơ nhiều	32	61,5
Viêm		
Không viêm	11	21,2
Viêm nhẹ	25	48,1
Viêm nhiều	16	30,8
Hoại tử		
Không hoại tử	44	84,6
Hoại tử	8	15,4

Thể mô bệnh học của UTĐM trong gan chủ yếu là thể tuyến; trong đó, thể tuyến biệt hóa rõ chiếm tỷ lệ cao nhất (40,4%); tình trạng xơ nhiều (61,5%); tình trạng viêm nhẹ có tỷ lệ cao (48,1%). Tình trạng hoại tử u chỉ thấy ở 15,4%. Trên tiêu bản nhuộm HE hình ảnh cũng có những đặc điểm rất khác nhau. Những BN cần chẩn đoán phân biệt với UTBG thường có tế bào biểu mô nhân lớn, bắt màu kiềm tính, hạt nhân rõ hoặc không, bào tương phần lớn đều ưa toan, xếp thành đám, dải, bè, mô đệm có nhiều xơ. UTĐM có 2 thể chính là thể ống lớn và thể ống nhỏ. Thể ống lớn xuất hiện ở các ống mật trong gan gần rốn gan (gần với ống gan phải và ống gan trái). Thể ống nhỏ xảy ra xảy ra ưu thế ở ngoại vi gan. Những BN có hình ảnh của UTĐM thì thấy tế bào biểu mô nhân lớn, kiềm tính, hạt nhân rõ, lộn xộn, hình tuyến to nhỏ, méo mó, mô đệm nhiều xơ, chất nhiễm sắc thô, bào tương hẹp hoặc không rõ. Các nghiên cứu khác cũng thấy phần lớn UTĐM trong gan là ung thư biểu mô tuyến và tùy mức độ biệt hóa tuyến mà chia mức độ biệt hóa từ thấp đến biệt hóa cao [4]. Với những tiêu bản thấy tế bào biểu mô nhân lớn, bắt màu kiềm tính, hạt nhân rõ hoặc không, bào tương phần lớn đều ưa toan, xếp thành đám, dải, bè, mô đệm có nhiều xơ, không phân biệt được với ung thư tế bào gan thì chúng tôi phải dựa vào kết quả hóa mô miễn dịch nhuộm dấu ấn Hep par-1. Chính đặc điểm xơ và hình ảnh tế bào không rõ hạt nhân, không tạo mật giúp phân biệt với ung thư tế bào gan nhưng đôi khi là rất khó phân biệt với ung thư biểu mô tuyến di căn gan và những trường hợp này phải dựa vào dấu ấn hóa mô miễn dịch [6].

Bảng 6: Tỷ lệ bộc lộ các dấu ấn hóa mô miễn dịch được nhuộm.

Dấu ấn	Dương tính		Âm tính		Không nhuộm	
	n	%	n	%	n	%
Dấu ấn trung bình	4,92 ± 0,86					
Nhỏ nhất, lớn nhất	4 - 7					
CK7	52	100				
CK19	49	94,2	2	3,8	1	1,9
CK20	8	15,4	44	84,6		

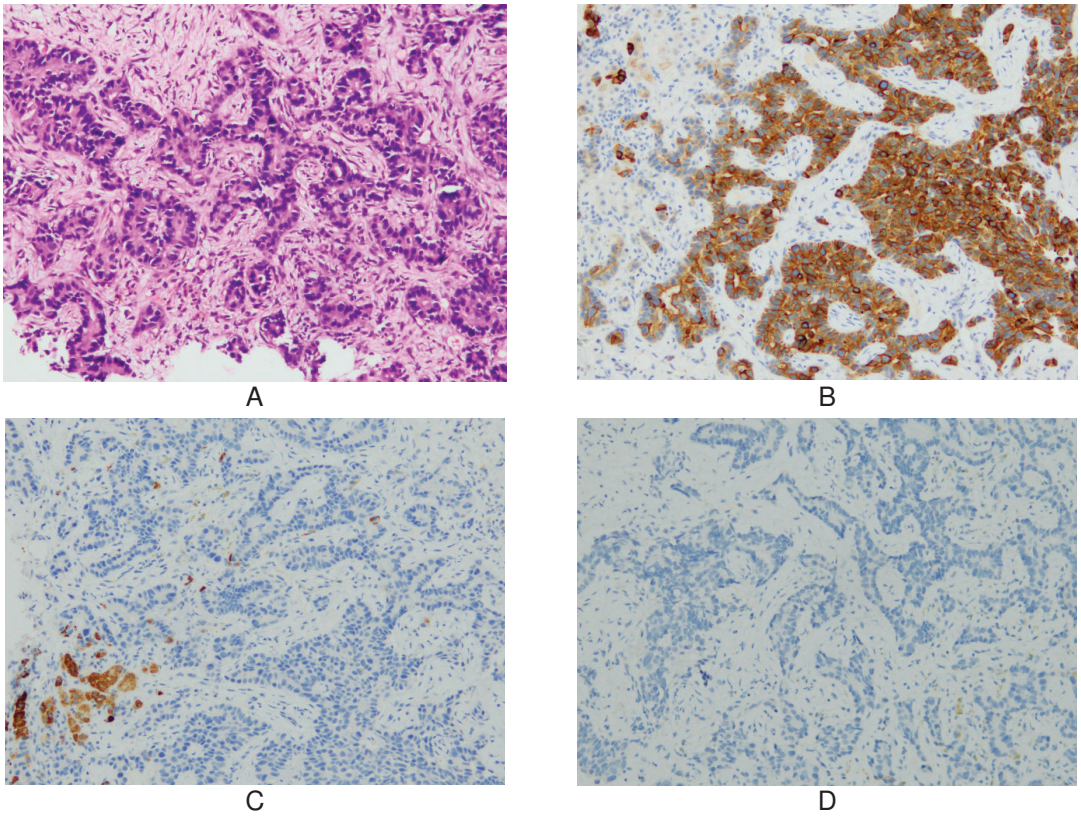
Dấu ấn	Dương tính		Âm tính		Không nhuộm	
	n	%	n	%	n	%
CDX2	5	9,6	16	30,8	31	59,6
P40	1	1,9			51	98,1
Hep par-1			43	82,7	9	17,3
AFP			10	19,2	42	80,8
TTF1			11	21,2	41	78,8
CEA			1	1,9	51	98,1
PSA			1	1,9	51	98,1
CA125			1	1,9	51	98,1
WT1			1	1,9	51	98,1
Napsin A			2	3,8	50	96,2
CD34			1	1,9	51	98,1

Trung bình số dấu ấn được nhuộm là 4,92 ± 0,86. Số dấu ấn nhuộm ít nhất là 4, nhiều nhất là 7 trên một BN. Do độ tin cậy chẩn đoán từ xét nghiệm máu không cao và hình ảnh chụp CT bụng đa số không đặc hiệu, nên tất cả BN đều được tiến hành sinh thiết gan. Hình ảnh nhuộm HE chủ yếu là hình thái tuyến; vì vậy, khi nhuộm hóa mô miễn dịch chúng tôi ưu tiên nhuộm dấu ấn Hep par-1 hoặc là AFP để phân biệt với UTBG [3]. Các BN dương tính với các dấu ấn này đã bị loại ra khỏi nghiên cứu, chính vì vậy, kết quả đều là âm tính: Hep par-1 (82,7%), AFP (19,2%). Tỷ lệ ung thư tuyến trong nghiên cứu là cao nhất nên dấu ấn miễn dịch được nhuộm khá nhiều là CDX2. CDX2 có giá trị để phân biệt với những trường hợp ung thư đại trực tràng nhưng trong đường tiêu hóa nói chung như đường mật CDX2 vẫn dương tính [7]. Tuy trong nghiên cứu này có 9,6% BN CDX2 dương tính nhưng toàn bộ BN đều có CK7 dương tính, hơn nữa tất cả BN đều được tầm soát thêm bằng nội soi, có 02 BN cần phải sinh thiết thì kết quả đều là viêm mạn tính, 01 BN có polyp lành tính; vì vậy, chúng tôi loại trừ khả năng ung thư từ đường tiêu hóa di căn vào đường mật. Trên hình ảnh CT scan có 7,7% u ở phổi và 11,5% u xương nên dấu ấn TTF1 được nhuộm khá nhiều. Đây là dấu ấn có độ đặc hiệu 100% cho ung thư nguyên phát ở phổi [8]. Kết quả hóa mô miễn dịch cho thấy 21,2% TTF1 đều âm tính nên có thể xác định tổn thương ở phổi và xương của BN là tế bào ác tính di căn từ đường mật. Có 01 BN phải nhuộm đồng thời bảy dấu ấn CK7, CK19, CK20, Heppar-1, TTF1, CDX2, PSA do BN có một khối u lớn và nhiều nốt nhỏ, trên hình ảnh CT scan xác định có hạch bất thường ở rốn gan, bờ cong nhỏ, cạnh động mạch chủ bụng, cạnh động mạch thận, xương đốt sống L1, L2. Kết quả chỉ có CK7 dương tính, loại trừ ung thư ở tế bào gan, ống tiêu hóa và tuyến tiền liệt. Dấu ấn CA125 được nhuộm cho 01 BN nữ 77 tuổi, có một u 3,5 cm ở thùy gan trái để phân biệt u di căn từ buồng trứng, kết quả là CA125 âm tính, CK7 và CK19 dương tính, BN chẩn đoán là UTĐM và được phẫu thuật cắt u gan trái. WT1 được nhuộm cho 01 BN nữ, tiền sử bình thường, nội soi có

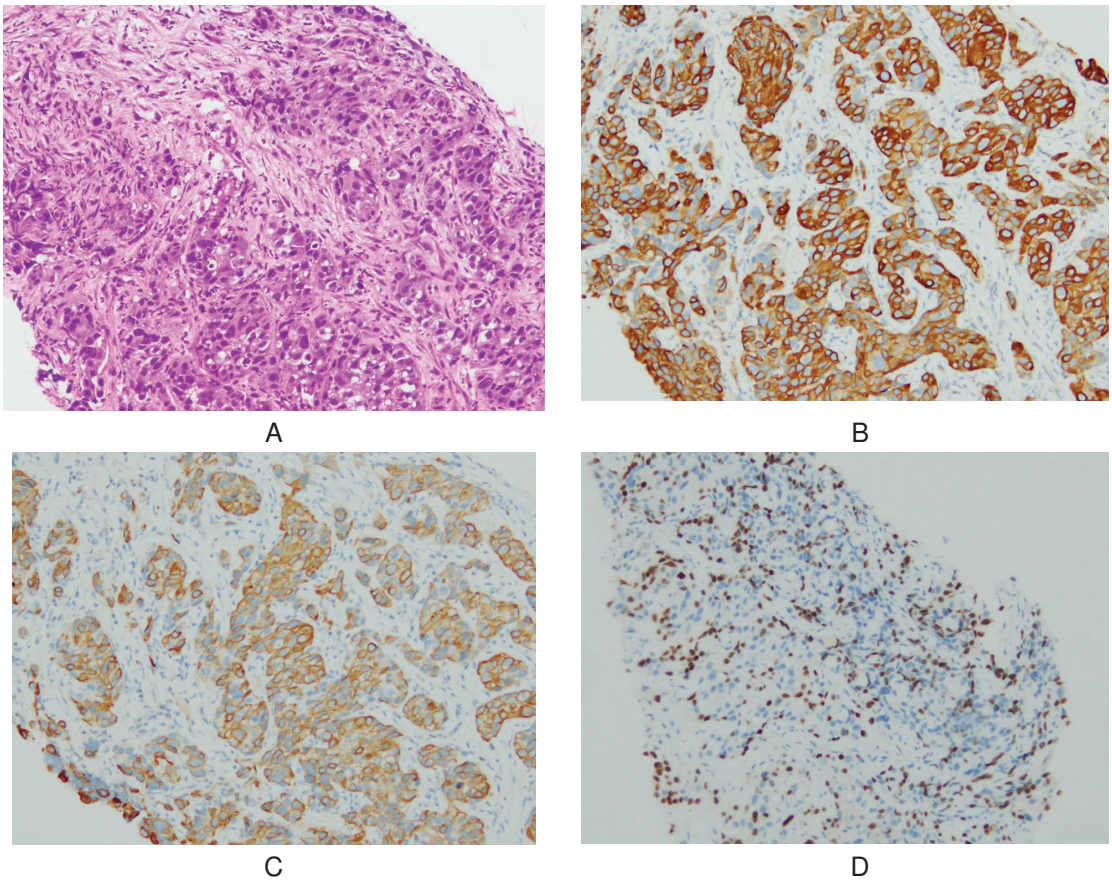
polyp cổ tử cung, xét nghiệm CA125: 792 IU/ml. Tuy nhiên, kết quả cho thấy WT1 âm tính, CK7 và CK19 dương tính nên chúng tôi vẫn chẩn đoán là UTĐM. Do khối u quá to (10 cm) nên BN được chỉ định điều trị hóa chất giảm nhẹ. 02 BN có tiền sử COPD, trên hình ảnh CT scan không thấy ngấm thuốc điển hình, định hướng là di căn từ cơ quan khác đến gan, dấu ấn Napsin A được nhuộm và có kết quả âm tính. Nghiên cứu này có 01 BN P40 dương tính nhưng đồng thời CK7, CK19 dương tính và trên hình ảnh CT scan không phát hiện tổn thương ở phổi, cũng không có yếu tố nguy cơ gây ung thư phổi, nên chúng tôi cho rằng tình trạng của BN này là dạng vảy của UTĐM.

Về mặt mô bệnh học, 90 - 95% UTĐM là ung thư biểu mô tuyến có độ biệt hóa từ trung bình đến kém, với biểu hiện đặc trưng của mucin và mô đệm giảm đàn hồi cao. Biểu hiện CK7+ và CK19+ là đặc trưng của UTĐM, qua nghiên cứu thấy ung thư đường mật trong gan có tỷ lệ CK7+ là 100% và CK19+ là 94,2%. Nhưng cả hai protein cũng có thể được biểu hiện trong UTBG và ung thư biểu mô tuyến di căn. Cần phải nhuộm phối hợp thêm các dấu ấn khác để loại trừ u di căn từ cơ quan khác như ống tiêu hóa, phần phụ hay phổi.

** Hình ảnh mô bệnh học và hóa mô miễn dịch của đối tượng nghiên cứu:*



Hình 1: Hình ảnh mô bệnh học và mô miễn dịch của ung thư biểu mô đường mật trong gan: Các khối u được xếp thành lớp biểu mô hình khối đến hình trụ trên nền của mô đệm sợi (A). Tế bào khối u dương tính mạnh với CK7 (B), âm tính với Hep par - 1 (C) và CK20 (D). Độ phóng đại x 200.



Hình 2: Hình ảnh mô bệnh học và mô miễn dịch của ung thư đường mật trong gan: Ung thư biểu mô tuyến biệt hóa kém có hình đặc (A); Tế bào khối u dương tính với CK7 (B) và CK19 (C); P40 dương tính (D). Độ phóng đại x 200.

KẾT LUẬN

Tỷ lệ CA 19-9 tăng 63,5%, CEA tăng 44,2%. Kích thước u trung bình là 6,7 ± 3,5 cm. U di căn hạch chiếm 32,7%, di căn xương 11,5%.

TNM giai đoạn II và IV đều là 32,7%. Thể mô bệnh học của UTĐM trong gan chủ yếu là tuyến biệt hóa cao chiếm 40,4%.

Dấu ấn CK7 dương tính ở 100% BN. CK19 dương tính chiếm 94,2%. Tỷ lệ dương tính thấp ở dấu ấn CK20, CDX2, P40.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Esnaola N. F., Meyer J. E., Karachristos A., et al. Evaluation and management of intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma. Cancer 2016; 122(9):1349-1369.

2. Khan S. A., Emadossadaty S., Ladep N. G., et al. Rising trends in cholangiocarcinoma: Is the ICD classification system misleading us? J Hepatol 2012; 56(4):848-854.

3. Blechacz B. Cholangiocarcinoma: Current knowledge and new developments. Gut Liver 2017; 11(1):13-26.

4. Ahn D. H., Bekaii-Saab T. Biliary cancer: Intrahepatic cholangiocarcinoma vs. extrahepatic cholangiocarcinoma vs. gallbladder cancers: Classification and therapeutic implications. J Gastrointest Oncol 2017; 8(2):293-301.

5. Khan S. A., Davidson B. R., Goldin R. D., et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: An update. Gut 2012; 61(12):1657-1669.

6. Vijgen S., Terris B., Rubbia-Brandt L. Pathology of intrahepatic cholangiocarcinoma. Hepatobiliary Surg Nutr 2017; 6(1):22-34.

7. Bayrak R., Haltas H., Yenidunya S. The value of CDX2 and cytokeratins 7 and 20 expression in differentiating colorectal adenocarcinomas from extraintestinal gastrointestinal adenocarcinomas: Cytokeratin 7-/20+ phenotype is more specific than CDX2 antibody. Diagn Pathol 2012; 7:9.

8. Reis-Filho J. S., Carrilho C., Valenti C., et al. Is TTF1 a good immunohistochemical marker to distinguish primary from metastatic lung adenocarcinomas? Pathol Res Pract 2000; 196(12):835-840.